



UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTAD DE PSICOLOGÍA

EFECTO MODULADOR DE LA TEMPERATURA
AMBIENTAL EN EL MODELO ANIMAL DE ANOREXIA
BASADA EN LA ACTIVIDAD: IMPLICACIONES PARA EL
TRATAMIENTO DE LA ANOREXIA NERVIOSA

María Cerrato Martín

Tesis Doctoral dirigida por:
Dr. Emilio Gutiérrez

Santiago de Compostela, 2010



FACULTADE DE PSICOLOXÍA
Dpto. de Psicología Clínica e Psicobiología

Campus Vida. 15782 Santiago de Compostela
Tfno: 981563100, ext. Fax: 981528071

EMILIO GUTIÉRREZ GARCÍA, Profesor Titular del Departamento de Psicología Clínica y Psicobiología, de la Facultad de Psicología de la Universidad de Santiago de Compostela.

INFORMA

Que la Tesis Doctoral realizada bajo su dirección en la Universidad de Santiago de Compostela por MARÍA CERRATO MARTÍN con el título: "Efecto modulador de la temperatura ambiental en el modelo animal de Anorexia Basada en la Actividad: implicaciones para el tratamiento de la Anorexia Nerviosa" no sólo reúne los requisitos de calidad, originalidad y presentación exigibles a una investigación científica para ser defendida públicamente, sino que merece la máxima valoración en cuanto a seriedad de planteamientos, actualidad de enfoque y rigor metodológico.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmamos la presente.

En Santiago de Compostela, 30 de Julio del 2010.

Fdo: Emilio Gutiérrez García

Fdo: María Cerrato Martín

*Todos somos marineros,
marineros que saben bien navegar.
Todos somos capitanes,
capitanes de la mar.*

*Todos somos capitanes
y la diferencia está
sólo en el barco que vamos
sobre las aguas del mar.*

*Marinero, marineros;
marinero... capitán
que llevas un barco humilde
sobre las aguas del mar...
marinero...
capitán...
no te asuste naufragar
que el tesoro que buscamos,
capitán,
no está en el seno del puerto
sino en el fondo del mar.*

León Felipe, 1930

AGRADECIMIENTOS

Desde que me embarqué en esto...

Si busco entre mis recuerdos los que me han dejado un sabor más duradero,
me encuentro con...

Cada experimento, cada día en el laboratorio,
cada dato, cada resultado, cada decisión, cada párrafo,
cada emoción, cada café, cada risa...
Cada incertidumbre.

Cada mediodía, una conversación cualquiera sobre los de la mesa de al lado.
Una dosis de optimismo irracional al final de cada regata,
no hay fracasos, mientras las galaxias se expanden.
Una burbuja de realidad aparte, hoy es jueves.
Tiempo y espacio para poner el viento a favor. Hacer. Sentir.

Cada archivo de Word, un globo al aire, con un comentario o sugerencia.
Cada dato, cada punto o... ¿punto y coma?, visto del derecho o del revés.
Cada paseo en el circuito de corredores,
corre y corre con sus rizos canela...
¿Hasta dónde? – no más allá de Lejano Oriente que...
-“mañana, tenemos ratas”, tenemos.

Cada viernes, -a veces clínico-
viento en popa, navegando la AP-9;
de vuelta, una bolsa llena con algo más que víveres.
Cada e-mail, cada mensaje, cada llamada, al margen del código Morse...
preguntan: -¿cómo va esa tesis? -¿qué tal Vestruz?-¿avanzaste...?
Bueno...- ya queda menos para avistar tierra.

Cada contrariedad, prueba superada...
Cada sonrisa, que desbancó al mal humor. El humor es el humor...

Cada consejo, sobre en qué barco zarpar, qué ruta tomar o
en qué puerto atracar...
cada decisión, cada alegría, cada momento, cada recuerdo
tiene un protagonista diferente que,
junto con mi Director de Tesis, siempre en popa mirando a proa,
la Fundación Carmela-Martínez y Alfredo Campos,
Mario, Chus, Chema,
Alba... y su relevo...
Reyes y Olaia
fueron la mejor tripulación,
remando por babor y por estribor,
con el patrón de esta trainera: Emilio Gutiérrez.

¡Un brindis por todos los que subieron a bordo!

¡Un aplauso por los que disfrutaron de esta regata!

Efecto modulador de la temperatura ambiental en el modelo animal de Anorexia Basada en la Actividad: implicaciones para el tratamiento de la Anorexia Nerviosa

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

CAPÍTULO 1

Anorexia Nerviosa

1. Introducción: panorama actual del tratamiento de la Anorexia Nerviosa.....	3
2. Recorrido histórico de los tratamientos en la Anorexia Nerviosa	8
2.1. De William Gull a Hilde Bruch	10
2.2. La multidimensionalidad a escena	18
2.3. “Is evidence based treatment of anorexia nervosa possible?” - Barely, (¿Existe un tratamiento basado en la evidencia para la anorexia nerviosa? – Apenas).....	21

CAPÍTULO 2

Anorexia Basada en la Actividad (ABA): un modelo análogo de la Anorexia Nerviosa

1. Introducción: Empleo de los modelos animales en la investigación de los trastornos mentales	31
2. El modelo de Anorexia Basada en la Actividad	34
2.1. Antecedentes del modelo ABA	35
2.1.1. Self-starvation y producción de úlceras	36
2.1.2. ABA: de la Eastern Washington State University a la University of Alberta	38

2.2. Pormenores del modelo ABA	40
2.2.1. Factores relacionados con el desarrollo de la Anorexia Basada en la Actividad... ..	45
2.2.2. Actividad, pérdida de peso y	48
2.3. Homología, analogía y utilidad del modelo ABA	53
3. Anorexia Basada en la Actividad y la hiperactividad en la Anorexia Nerviosa ..	57
3.1. Robert Boakes: “ <i>What makes a rat run?</i> ” (Boakes, 2007, p.253).....	58
3.2. La hiperactividad: la Cenicienta de los signos y síntomas de la Anorexia Nerviosa	61
3.2.1. Prevención y reversión de la actividad en el modelo ABA.....	63
3.3. La temperatura ambiental: un factor pasado por alto	65
3.4. La interpretación termoregulatoria de la Actividad en el modelo ABA.....	69
4. Reversión de ABA manipulando la temperatura ambiental	82

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Introducción general	87
----------------------------	----

CAPÍTULO 3

El efecto del calor en el procedimiento de Anorexia Basada en la Actividad (ABA): implicaciones para el tratamiento de la Anorexia Nerviosa

1. Introducción	91
2. Método	94
2.1. Sujetos	94
2.2. Aparatos	94
2.3. Procedimiento	95
2.4. Análisis estadístico	96
3. Resultados	97
3.1. Fase I	97
3.2. Fase II	100
4. Discusión	103

CAPITULO 4

Replicación en hembras del efecto de reversión del calor en el modelo ABA

1. Introducción	111
2. Método	112
2.1. Sujetos	112
2.2. Aparatos	112
2.3. Procedimiento	112
2.4. Análisis estadístico	113
3. Resultados	114
3.1 Fase I	115
3.2 Fase II	119
4. Discusión	123

CAPÍTULO 5

Efecto de la temperatura ambiente sobre la ingesta y el peso de las ratas sedentarias

1. Introducción	129
2. Método	130
2.1. Sujetos	130
2.2. Aparatos	131
2.3. Procedimiento	131
2.4. Análisis estadístico	134
3. Resultados	134
3.1. Ingesta	135
3.1.1. Hembras	135
3.1.2. Machos	139
3.2. Peso corporal	142
3.2.1. Hembras	142
3.2.2. Machos	145
4. Discusión	148

CAPÍTULO 6

La temperatura ambiente elevada normaliza la sobreexpresión hipotalámica del receptor MC4 en un modelo animal de Anorexia Nerviosa

1. Introducción	157
2. Método	160
2.1. Sujetos	160
2.2. Aparatos	160
2.3. Grupo experimental	161
2.4. Procedimiento ABA	161
2.5. Extracción hipotalámica, análisis de ARN y cuantificación con reacción en cadena polimerasa, transcripción inversa (PCR -RT)	162
2.6. Análisis estadísticos	164
3. Resultados	164
3.1. Modelo ABA	164
3.2. Efectos de temperatura ambiente elevada en el modelo ABA	168
3.3. Efectos de temperatura ambiente elevada en ratas Sedentarias	169
4. Discusión	170

CAPITULO 7

Resumen, conclusiones y líneas futuras de investigación

1. Resumen y conclusiones	181
2. Implicaciones para el tratamiento de la Anorexia Nerviosa	184
3. Líneas futuras de investigación	191

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	197
----------------------------------	-----

ANEXOS

<i>Anexo 1</i>	239
<i>Anexo 2</i>	240
<i>Anexo 3</i>	241

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<i>Tabla 1.</i> Descripción de los elementos que integran un paquete estructurado de tratamiento multidisciplinar de la anorexia nerviosa	4
<i>Tabla 2.</i> Eficacia y problemas potenciales asociados a un paquete estructurado de tratamiento multidisciplinar de la anorexia nerviosa	5
<i>Tabla 3.</i> Los cuatro artículos claves en la aparición del rótulo “Anorexia Nerviosa”	10
<i>Tabla 4.</i> Esbozo del panorama de la anorexia nerviosa en la primera mitad del siglo XX, Dally P. J. y Sargent W. (1960). A new treatment of Anorexia nervosa, BMJ, p. 1770	17
<i>Tabla 5.</i> Peso corporal (Media \pm SEM) en el Día 0 en función del CPP 20%	114
<i>Tabla 6.</i> Media \pm SEM de la actividad en la rueda de los animales durante la Fase I (Día 1- CPP20%)	116
<i>Tabla 7.</i> Peso corporal medio (\pm SEM) a lo largo de la Fase I	117
<i>Tabla 8.</i> Media \pm SEM de ingesta durante la Fase I	118
<i>Tabla 9.</i> Distancia en metros recorrida durante la Fase II (desde el Día CPP 20% al Día Final)	120

<i>Tabla 10.</i> Media \pm SEM de la ingesta de los animales el Día CPP 20%, a lo largo de la Fase II y el Día Final	122
<i>Tabla 11.</i> Valores relativos a la ingesta y al peso corporal en la Fase I y II para todos los grupos de hembras	138
<i>Tabla 12.</i> Valores relativos a la ingesta y al peso corporal en la Fase I y II para todos los grupos de machos	141
<i>Tabla 13.</i> Secuencia de primers para POMC, AgRP, Receptor MC4 y β -Actina	164
<i>Figura 1.</i> Principales efectos del procedimiento ABA.....	43
<i>Figura 2.</i> Principales factores que determinan el desarrollo de ABA. La longitud de la flecha indica el peso de cada uno de los factores.....	47
<i>Figura 3.</i> Corte sagital del cerebro de la rata mostrando el sistema dopaminérgico mesolímbico-cortical. Las neuronas dopaminérgicas localizadas en el núcleo ATV proyectan sus fibras a estructuras del prosencéfalo tal como el núcleo accumbens, la corteza prefrontal, la amígdala y el hipotálamo. Modificado de Ungerstedt, 1974.....	59
<i>Figura 4.</i> Diagrama que muestra el círculo vicioso que se produce entre el efecto termorregulatorio de actividad en la rueda y la hipotermia resultante de la exposición al procedimiento ABA.....	71
<i>Figura 5.</i> Cambios en peso corporal de animales expuestos a ABA estándar bajo dos condiciones de temperatura ambiental (Experimento 1. Figura tomada de Gutiérrez et al., 2006, p. 1199	75
<i>Figura 6.</i> Cambios en peso corporal y la ingesta de animales expuestos a ABA en función de los cambios en la temperatura ambiental. La línea punteada separa la Fase I de la Fase II. (Experimento 2. Figura tomada Gutiérrez et al., 2006, p. 1202	76

<i>Figura 7.</i> Cambios en la actividad de animales expuestos a ABA en función de los cambios en la temperatura ambiental. En el panel de la izquierda se muestra la actividad en las tres horas anteriores al tiempo de comida y en el panel derecho la actividad para el resto del día. La línea punteada separa la Fase I de la Fase II. (Experimento 2. Figura tomada de Gutiérrez et al., 2006, p. 1203).....	77
<i>Figura 8.</i> Cambios en el peso en los tres días posteriores a que cada rata alcanzara el 20% de pérdida de peso en un ABA estándar, momento en el que se privó a las ratas del acceso a la rueda y los animales fueron alojados a diferente temperatura ambiental. (Experimento 3. Figura tomada de Gutiérrez et al., 2006, p. 1206).....	78
<i>Figura 9.</i> Cambios en el peso y la actividad de los animales como resultado del acceso restringido (3h/día) a la rueda de actividad y del alojamiento a diferente temperatura ambiental. (Experimento 4. Gutiérrez et al., 2006, p. 1207-1208)	79
<i>Figura 10.</i> En la Figura 1A: Media \pm SEM de las vueltas en la rueda los días previos y posteriores a alcanzar el CPP del 20%, y el Día Final del experimento. Figura 1B: Media \pm SEM del peso corporal relativo al peso en el Día 0, para los mismos días que se representan en la Figura 1A. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos AC21/32 y SED21/32.....	99
<i>Figura 11.</i> Ingesta media (\pm SEM) a lo largo de los días para las ratas Activas y Sedentarias. Nota: Sólo se muestran seis puntos en el eje de abscisas ya que el experimento se terminó después de haber registrado el peso de las ratas y antes registrar la ingesta. La línea vertical punteada indica el punto en el que la temperatura ambiente se aumentó a 32° C para el grupo AC21/32 y para el grupo SED21/32	100

<i>Figura 12.</i> Esquema de muestra y procedimiento. El color de las cajas indica la temperatura a la que estuvieron sometidos los diferentes grupos, así el azul se corresponde con una temperatura ambiente estándar de 21° C y el rojo con una temperatura ambiente elevada de 32° C	113
<i>Figura 13.</i> Media \pm SEM de la actividad en la rueda (vueltas x 1.1 m) para los dos grupos Activos. Se representan los días previos y posteriores a alcanzar el CPP 20%, además del Día Final del experimento. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para el grupo AC21/32	116
<i>Figura 14.</i> Media \pm SEM del peso corporal relativo al peso en el Día 0. Se representan los días previos y posteriores a alcanzar el CPP 20%, además del Día Final del experimento. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos AC21/32 y SED21/32.	117
<i>Figura 15.</i> Media \pm SEM de la ingesta en gramos. Se representan los días previos y posteriores a alcanzar el CPP 20%, además del Día Final del experimento. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos AC21/32 y SED21/32.....	117
<i>Figura 16.</i> Media \pm SEM de la ingesta en gramos para el Día 1, el Día CPP 20% y el Día Final. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos AC21/32 y SED21/32.....	121
<i>Figura 17.</i> Figura comparativa de la ingesta de machos y hembras	126
<i>Figura 18.</i> Esquema del procedimiento y composición de la muestra. El color de las cajas indica la temperatura ambiental: azul = 21° C y rojo = 32° C. Abreviaturas: RF = alimentación restringida; PF = pair-feed y AL = alimentación ad libitum.* Se perdió un animal finalizada la Fase I por un problema técnico	133

<i>Figura 19.</i> Media \pm SEM del la ingesta en gramos para los seis grupos de hembras durante la Fase I y la Fase II. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos TA 32-RF, TA32-PF21, TA32-AL	136
<i>Figura 20.</i> Media \pm SEM del la ingesta en gramos para los seis grupos de machos durante la Fase I y la Fase II. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos TA 32-RF, TA32-PF21, TA32-AL	139
<i>Figura 21.</i> Media \pm SEM del peso corporal para las hembras, durante la Fase I y II. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos TA 32-RF, TA32-PF21, TA32-AL	143
<i>Figura 22.</i> Media de peso corporal (g) para los cuatro grupos de hembras con alimentación restringida. En el panel de la izquierda representamos adosados los grupos que comieron la misma cantidad de comida a diferente temperatura. En el panel de la derecha en cambio representamos los que estuvieron a la misma temperatura recibiendo diferente cantidad de comida	144
<i>Figura 23.</i> Media \pm SEM del peso corporal para todos machos, durante la Fase I y II. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos TA 32-RF, TA32-PF21, TA32-AL	146
<i>Figura 24.</i> Media \pm SEM del peso corporal (g) para los cuatro grupos con ingesta restringida que comieron la misma cantidad de comida pero a diferente temperatura	147
<i>Figura 25.</i> Gráficos comparativos de peso e ingesta (\pm SEM) de los grupos de machos y hembras con ingesta restringida a lo largo de todo el estudio	149
<i>Figura 26.</i> Peso corporal en (A) Grupo Activo (AC21/21) vs. Grupo Sedentario (SED21/21), ambos a 21° C de temperatura; en (B) Grupo Activo a 21° C (AC21/21) vs. Grupo Activo a 32° C (AC21/32) y en (C) Grupo Sedentario a 21° C (SED21/21) vs.	

Grupo Sedentario a 32° C (SED21/32). ** $P < .01$; *** $P < .001$. El procedimiento ABA comenzó el Día 0, y continuó hasta que los animales activos perdieron el 20% del peso corporal inicial en el Día 0 (CPP 20%), que fue el criterio para el cambio de temperatura. El Día 1, Día 2 y PRE 20% son los días previos al criterio, mientras que CPP 20% y Post 20% son los días posteriores al criterio. El Día Final fue cuando las ratas alcanzaron el criterio de recuperación o de retirada.....	165
<i>Figura 27.</i> La ingesta en (A) Grupo Activo a 21°C (AC21/21) vs. Grupo Sedentario a 21° C (SED21/21); (B) Grupo Activo a 21° C (AC21/21) vs. Grupo Activo a 32° C (AC21/32) y en (C) Grupo Sedentario a 21° C (SED21/21) vs. Grupo Sedentario a 32° C (SED21/32). * $P < 0.05$. El procedimiento ABA comenzó el Día 0, y continuó hasta que los animales activos perdieron el 20% del peso corporal inicial en el Día 0, que fue el criterio establecido para el cambio de temperatura. Los Días 1, 2 y PRE 20% se corresponden con los días previos al criterio, mientras que CPP 20% y Post 20% son los días posteriores al criterio. Se consideró el Día Final, cuando las ratas alcanzaron el criterio de recuperación o de retirada	166
<i>Figura 28.</i> Receptor Mc4, Pomc y niveles de AgRP ARNm en el hipotálamo del Grupo Activo a 21° C (AC21/21) vs. Grupo Sedentario a 21° C (SED21/21). * $P < .05$; *** $P < .001$	167
<i>Figura 29.</i> Vueltas en la rueda de actividad para el grupo a 21° C de (AC21/21) vs. Grupo Activo a 32° C (AC21/32).....	168
<i>Figura 30.</i> Receptor MC4, POMC y los niveles de AgRP ARNm en el hipotálamo para el grupo Activo a 21° C (AC21/21) vs. Activas a 32° C (AC21/32). * $P < .05$; *** $P < .001$	169
<i>Figura 31.</i> Receptor MC4, POMC y los niveles de AgRP ARNm en el hipotálamo para el grupo Sedentario a 21° C de temperatura (AC21/21) vs. Sedentario a 32° C (AC21/32). * $P < .05$; *** $P < .001$	170

Figura 32. Fotografía tomada del apéndice del libro “The biology of human starvation” (Keys, Brozek, Henschel, Mickelsen y Taylor ,1950)187

ABREVIATURAS

ABA:	Anorexia Basada en la Actividad
AC:	Activa
ADN _c :	ADN complementario
AgRP:	Proteína Relacionada con el Agouti
AL:	Ad libitum
AN:	Anorexia nerviosa
ARC:	Núcleo del hipotálamo
ARN _m :	ARN mensajero
ATV:	Área Tegmental Ventral
HPA:	Eje hipotalámico - hipofisis - adrenal
HPG:	Eje hipotalámico - hipofisis - adrenal
ICV:	Intracerebroventricular
LHA:	Área hipotalámica lateral
MC1:	Melanocortinas, tipo I
MC3:	Melanocortinas, tipo III
MC4:	Melanocortinas, tipo IV
PCR-RT:	PCR- Real Time
PF:	Pair- feed
PVN:	Núcleo Paraventricular
RF:	Restricted - feeding
SED:	Sedentario
SNS:	Sistema nervioso simpático
TA:	Temperatura ambiente
α -MSH:	Hormona estimuladora de melanocitos

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

CAPÍTULO 1

Anorexia Nerviosa

1. Introducción: panorama actual del tratamiento de la Anorexia Nerviosa

La anorexia nerviosa es un trastorno grave que afecta al 0,1% de las mujeres entre los 12 y los 20 años (Berkman, Lohr y Bulik, 2007; Halmi, 2009), aunque puede manifestarse también en hombres la proporción es mucho menor¹ (un hombre por cada diez mujeres) (Hoek y Van Hoeken, 2003). El comienzo de la enfermedad se asocia, muy a menudo, con acontecimientos estresantes inespecíficos y aunque el curso y el desenlace son variables, aproximadamente en el 25% de los casos la cronicidad es el resultado final, con las correspondientes secuelas físicas y psíquicas (Mitchell y Bulik, 2006). Además, la anorexia nerviosa es el trastorno psiquiátrico con mayor tasa de mortalidad, que se sitúa entre el 10 - 15% (Button, Chadalavada y Palmer, 2010; Löwe, Zipfel, Buchholz, Dupont, Reas y Herzog, 2001; Sullivan, 1995). Estos aspectos referidos a la mortalidad y a la cronicidad, adquieren mayor relevancia si se tiene en cuenta la ausencia, en la actualidad, de un tratamiento eficaz para este trastorno, como pasamos a revisar en las páginas que siguen.

En una publicación reciente en el New England Journal of Medicine se refleja claramente cual es el estado de la cuestión con respecto al tratamiento multifacético de la anorexia nerviosa (véase Tabla 1), en el que destacan:

- a) El énfasis en los aspectos relacionados con el proceso de renutrición (calorías a ingerir, utilización de sondas, pesajes periódicos, contingencias asociadas a la evolución del peso, etc.).
- b) La diversidad de recursos asistenciales (hospitalización, hospital de día, programas ambulatorios, etc.).
- c) La involucración de diferentes especialistas en las diferentes etapas de la enfermedad (endocrinólogos, internistas, nutricionistas, psicólogos, terapeutas familiares, psiquiatras, asistentes sociales).

¹ Debido a esta desproporción, entre hombres y mujeres de pacientes con anorexia nerviosa, de aquí en adelante se utilizará el femenino en el texto.

Tabla 1. Descripción de los elementos que integran un paquete estructurado de tratamiento multidisciplinar de la anorexia nerviosa. (Véase traducción en Anexo 1).

Attia, E. y Walsh B. T. (2009). Behavioral management for anorexia nervosa. *New England Journal of Medicine*, 360, 500 - 506.

Structured behavioral programs generally use a multidisciplinary treatment team that works to deliver consistently applied interventions that aim to normalize weight and eating behavior. Patients are presented with behavioral expectations, such as eating 100% of their food and achieving a significant rate of weight gain. Priority is given to providing patients with adequate calories to begin weight restoration. Approximately 3500 kcal over maintenance requirements are required for every pound gained. The eating-disorders program at our institution begins with a prescription of 1800 kcal per day in solid food. When the patient is medically stable (generally, between 2 and 7 days after admission), the diet is increased by 400 kcal per day every 48 to 72 hours until it reaches 3800 kcal per day, almost all of which (3000 kcal) is provided in the form of solid food, with the remainder being provided as a liquid supplement. Patients are weighed three times per week and are expected to gain at least 0.75 lb (0.3 kg) over their previous highest weight each Monday, Wednesday, and Friday morning.

An effective behavioral program generally achieves refeeding with the use of orally administered food and nutritional supplements. Nasogastric feeding may be necessary for patients who are resistant or did not enter treatment voluntarily, but oral feedings should always be considered first. Some programs use nasogastric feedings overnight in an effort to reduce the demand for caloric intake during the day. However, the central goal of effective behavioral programs is the reinstatement of normal eating behavior, including the oral intake of calories at intervals during the daytime. Total parenteral nutrition is not preferable to feeding with the use of the gastrointestinal tract, since it has been associated with a high frequency of substantial medical complications in this population.

An important component of the behavioral approach is that contingencies are established in the event that nutritional goals are not achieved. For example, the level of physical activity that is permitted may be decreased or the amount of supervision increased if a patient's weight does not increase by the recommended amount. Calories may be added (including nasogastric feeding) if weight gain is inadequate. Programs emphasize that such interventions are medically necessary to achieve agreed-upon treatment goals, not punishment for "bad behavior." Opportunities for activity and flexibility within the treatment structure are increased if the expectations are met and reduced if they are not met. Patients participating in behavioral-management programs also receive a range of therapeutic interventions from a multidisciplinary team, which may include physicians, psychologists, nurses, nutritionists, clinical social workers, and occupational or recreational therapists. The specific goals of the treatment program include interruption of disordered eating behavior, the reintroduction of "feared" foods, and (especially as normal weight is approached) the practice of normal eating. Our program includes meal and postmeal supervision, group shopping and food preparation, and outings to local restaurants to help patients practice appropriate food selection and behavior while eating and after eating. In addition, we incorporate individual therapy sessions with psychiatric residents and meetings with a primary social worker who conducts family therapy. (pp. 502-504)

Sin embargo, como los autores reconocen en el mismo artículo (Tabla 2), este paquete de tratamiento estructurado multifacético y complejo tiene una eficacia limitada (en torno al 50%) y no está exento de otros inconvenientes.

Tabla 2. Eficacia y problemas potenciales asociados a un paquete estructurado de tratamiento multidisciplinar de la anorexia nerviosa. (Véase traducción en Anexo 2).

Attia, E. y Walsh B. T. (2009). Behavioral management for anorexia nervosa. *New England Journal of Medicine*, 360, 500 - 506 (Cont.)

As with any extended structured-treatment program, therapy for patients with anorexia nervosa is associated with interruptions in social, school, or work activities, as well as with feelings of powerlessness and a loss of control among patients. Given the impairment frequently associated with anorexia nervosa and the life-threatening nature of the illness, these risks are considered small in comparison with the potential benefits of treatment. In addition, concern is sometimes expressed that patients who have not undergone previous therapy may learn pathological behavior from more chronically ill patients within a shared behavioral program; no data are available to assess the frequency of such problems...

Although behavioral weight-restoration therapy is reliably helpful in the short-term management of anorexia nervosa, there is uncertainty about the long-term benefit of such programs. Unfortunately, even after successful completion of structured behavioral programs, attitudes about weight and eating behavior are not fully normalized. As a result, relapse rates are high. For inpatient treatment programs, nearly 50% of patients with anorexia nervosa who undergo weight-restoration therapy have a relapse during the first year after hospitalization. (pp.504-505)

Este programa que hemos elegido es una excelente representación de la mayoría de los programas de tratamiento, que recogen las directrices de la *Practice Guideline for the treatment of patients with eating disorders*, publicada por la American Psychiatric Association (2000²), y refleja el estándar de tratamiento de la anorexia nerviosa en la actualidad. Sin embargo, lejos de ser una alternativa exitosa, estos programas tan sólo han demostrado efectos satisfactorios a corto plazo (Attia y Walsh, 2009), e incluso hay autores que discuten la pertinencia del ingreso hospitalario (Byford, Barret, Roberts, Clark, Edwards, Smethurst y Gowers, 2007; Gowers, Clark, Roberts, Griffiths, Edwards, Bryan, Smethurst, Byford y Barrett, 2007; Gowers, Weeman, Shore,

² Traducida al castellano, bajo la supervisión científica del Prof. Josep Toro (2001).

Hossain y Elvins, 2000). Además, aunque a corto plazo estos programas alcanzan los objetivos de restablecimiento de peso, su éxito es muy limitado en cuanto al cambio de actitudes hacia el peso corporal y a la normalización del comportamiento alimentario; en consecuencia los índices de recaídas son bastante elevados, sobre todo en el año posterior a que se produzca la hospitalización (Eckert, Halmi, Marchi, Grove y Crosby, 1995; Pike, 1998; Walsh, Kaplan, Attia, Olmsted, Parides, Carter, Pike, Devlin, Woodside, Roberto y Rockert, 2006).

Por otra parte, el ámbito hospitalario implica una supervisión constante del staff contra la resistencia que oponen las pacientes al verse obligadas a aceptar un tratamiento, que aunque está orientado a preservar su vida, atenta contra su autonomía al suponer una disrupción de sus actividades sociales, laborales o escolares y producirles un intenso sentimiento de impotencia y malestar físico y psicológico (Moukaddem, Boulier, Apfelbaum y Rigaud, 1997; Offord, Turner y Cooper, 2006; Rigaud, Verges, Colas-Linhart, Petiet, Moukaddem, Van Wymelbeke, y Brondel, 2007; Russell, Baur, Beumont, Byrnes y Zipfel, 1998).

Este panorama referido a la eficacia de los tratamientos de la anorexia nerviosa se ve reflejado en las conclusiones de las últimas revisiones. Así, el Prof. Fairburn en el 2005, concluía con un *“Barely”* (apenas) a la pregunta: *“Is evidence-based treatment of anorexia nervosa possible?”*, que formulaba en el título de su revisión. Sin embargo, este “apenas” del Prof. Fairburn puede considerarse incluso excesivamente optimista a la luz de las conclusiones de otras revisiones, e.g., Bulik, Berkman, Brownley, Sedway y Lohr, (2007), a los que volveremos al final de este capítulo.

Como señalaba Mayer en 1963, *“It is the writer’s experience that the syndrome [anorexia nervosa] can be defined clearly and that the essentials aims of therapy are logical corollaries of its definition”* (p. 529). Por lo tanto, no es arriesgado suponer que la eficacia tan limitada de los tratamientos actuales en la anorexia nerviosa (Abbate-Daga, Gianotti, Mondelli, Quartesan y

Fassino, 2004; Bulik, et al, 2007; McIntosh, Jordan, Carter, Luty, McKenzie, Bulik, Frampton y Joyce, 2005; Michell, Cook-Myers y Wonderlich, 2005), sea una consecuencia directa de la conceptualización del trastorno. La concepción actual de la anorexia nerviosa, más o menos vigente en los últimos 40 años, se aglutina en torno a la concepción avanzada por Hilde Bruch quién resaltaba el papel central de las distorsiones de la imagen corporal (Bruch, 1962,1970).

Sin duda esta concepción ha dado sus frutos en el desarrollo de tratamientos de otro trastorno de alimentación como la bulimia nerviosa (Agras, Walsh, Fairburn, Wilson y Kraemer, 2000; Fairburn, Jones, Peveler, Hope y O'Connor, 1993; Kaplan, 2002), pero no en el caso de la anorexia nerviosa, donde el desarrollo de tratamientos nuevos y eficaces es desde hace 50 años uno de los mayores retos de la investigación y la práctica clínica.

Es extraño que desde los primeros casos descritos por William Gull, a finales del siglo XIX, en los que aparentemente el pronóstico del trastorno parecía más favorable, las diferentes concepciones del trastorno no hayan sido capaces de generar un tratamiento exitoso en el manejo de estas pacientes. En cierto sentido se podría afirmar que el avance ha sido mínimo en este terreno, en el que las más variadas conceptualizaciones a lo largo de la historia han producido más ruido que señal. Un breve recorrido histórico de este aspecto (concepción y tratamiento) nos permitirá una mejor perspectiva.

2. Recorrido histórico por el panorama de los tratamientos en la Anorexia Nerviosa

En el siglo XVII Richard Morton (1689), en uno de los primeros monográficos sobre la tuberculosis: *"Phthsiologica: or a treatise of Consumption"*, ofrece la primera descripción clínica del trastorno al que denominó "consunción nerviosa", y en su libro: *"Phthsiologic, seu Exercitationes de Phthisi"* narra el caso de una paciente de 18 años con amenorrea, que afirmaba tener mucha energía física e intelectual a pesar su tremenda delgadez. Añade en su descripción la ausencia de fiebre, tos, o dificultades respiratorias o pulmonares que justificaran el cuadro, pero sí la sensación de frío, a presencia de un reducido apetito y molestias digestivas. Esta paciente que carece de conciencia de enfermedad finalmente abandona el tratamiento y muere a los tres meses. En tan sólo cinco líneas, hace 320 años, Morton ya había destacado aspectos elementales para realizar el diagnóstico actual de anorexia nerviosa como la ausencia de apetito, la amenorrea y la intensa vitalidad a pesar del estado de desnutrición de las pacientes. Con posterioridad a Morton, podemos encontrar descripciones probables de pacientes con anorexia nerviosa, con denominaciones tales como "atrofia nerviosa" (Whytt, 1767), o "delirio hipocondríaco" (Marce, 1860).

Sin embargo, fue el médico inglés Sir William Gull³, quién a finales del siglo XIX reconoció nuevamente estos síntomas y los acuñó bajo el término "anorexia nerviosa"⁴ (Gull, 1874); atribuyéndose un mérito que podría ser discutible, tal y como han detallado Vandereycken y Van Deth (1989), ya que

³ Sir William Gull, era un afamado médico británico de origen humilde, caracterizado por su minuciosa atención a los detalles y su constante devoción a las pacientes (Pearce, 2006), al que le fue concedido el título de "Sir", tras su intervención en el tratamiento del príncipe de Wales, por su grave ataque de fiebre tifoidea en 1871 (Silverman, 1997).

⁴ El término "anorexia nerviosa" significa pérdida de apetito, esta denominación ha perdurado hasta nuestros días, desde su acuñación por Gull. Sin embargo, la raíz etimológica del término "anorexia" no se corresponde con la sintomatología central del trastorno, ya que la ausencia de apetito no se manifiesta hasta estadios muy avanzados de la enfermedad. Por otra parte, también otros autores recientemente cuestionan la adecuación del término "nerviosa". Así por ejemplo Lask y Frampton (2009) señalan que ese calificativo parece implicar la raíz psicológica del trastorno en detrimento de factores biológicos. Sin embargo, esta apreciación será el punto central de la concepción de la Anorexia por Actividad planteada por Epling, Pierce y Stefan (1983) que revisaremos más adelante.

un año antes en París, el psiquiatra Charles Lasègue (1873) había descrito nueve casos del trastorno bajo la etiqueta “*anorexie hysterique*”, fundamentándose principalmente en las observaciones del estado psicológico de las pacientes y del importante papel que cumplía la atmósfera familiar en la evolución del trastorno⁵.

Así, a pesar de no haber sido el primero en describir el trastorno, su publicación de 1874 en la que describió tres casos de anorexia nerviosa, desde una perspectiva estrictamente médica, se llevó el mérito de su descripción. El propio título de su artículo (véase Tabla 3) presenta una vocación integradora, pues propone el término *anorexia nervosa* que incluye entre paréntesis los términos de “*apepsia hystérica*” y “*anorexia hystérica*”. El término *apepsia hystérica* había sido mencionado por él mismo en 1868, en su discurso durante el encuentro anual de la British Medical Association, en uno de cuyos fragmentos se refiere a los casos de emaciación en jóvenes que no padecen tuberculosis. El fragmento en cuestión afirmaba que:

At present our diagnosis is mostly one of inference, from our knowledge of the liability of the several organs to particular lesions; thus we avoid the error of supposing the presence of mesenteric disease in young women emaciated to the last degree through hysteric apepsia, by our knowledge of the latter affection, and by the absence of tubercular disease elsewhere (Gull, 1868, p. 134).

Posteriormente, en Londres, con motivo de la XXIV reunión de la Clinical Society, William Gull leyó una comunicación titulada “*Anorexia hystérica*” (Gull, 1873), que recibió algunas críticas de otros colegas ingleses por su caracterización como un trastorno de tipo histérico. La mención de su referencia de 1868, en su artículo de 1874, fue decisiva para que Gull pasase a la historia como la persona que describe el trastorno de la anorexia nerviosa, ya que en el artículo de 1874 ofrecía una descripción más exhaustiva, aclarando que cuando seis años atrás había hablado de la *apepsia hystérica*, en realidad se refería a la *anorexia hystérica* descrita por Lasègue, como al

⁵ Lasègue (1873) en su artículo “*De l’anorexie hystérique*”, ofrece una descripción excelente de cómo se va modificando la actitud del entorno al comprobar, que después de varios meses, el estado de la paciente permanece inalterable. La inquietud domina la atmósfera familiar y social deteriorándola; al pasar de la aflicción más sincera y verdadera a los continuos reproches y amenazas.

término anorexia nerviosa que el mismo acuñaría y que perduraría a lo largo de la historia dando el nombre al trastorno.

Tabla 3. Los cuatro artículos claves en la aparición del rótulo “Anorexia Nerviosa”.

Gull, W. (1868). The address in medicine delivered before the Annual Meeting of the British Medical Association, at Oxford. *Lancet*, 2, 171 - 176.

Gull, W. (1873). Anorexia hystérica (apepsia hystérica). *British Medical Journal*, 2, 527 - 528.

Lasègue, C. (1873). De l'anorexie hystérique. *Archives Générales de Médecine*, 21, 385 - 403.

Gull, W. (1874). Anorexia nervosa (apepsia hysterica, anorexia hysterica). *Transactions of the Clinical Society of London*, 7, 22 - 28.

2.1. De William Gull a Hilde Bruch

La anorexia nerviosa, descrita inicialmente por Morton (1689), concebida como un trastorno histérico por Lasègue (1873), definida e introducida en la literatura médica por Sir William Gull (1868, 1874), ha sido considerada un síndrome de fácil diagnóstico, aunque no podemos decir lo mismo de su tratamiento. A lo largo de la historia se pueden distinguir diferentes fases, en las que el trastorno se ha tratado, bien como un desorden principalmente médico, bien como un trastorno psicológico caracterizado por el simbolismo sexual de la comida y las fantasías de impregnación oral, hasta la concepción actual imperante, en la que la *implacable persecución de la delgadez* (Bruch, 1962) está anclada en los trastornos de la imagen corporal que subyacen a la fobia al peso y al miedo a engordar.

De acuerdo con cada uno de estos planteamientos, a lo largo de la historia se han ido desarrollando técnicas y métodos de tratamiento que, fundados en las diferentes explicaciones del cuadro de signos y síntomas, uno tras otro han ido revelándose sin éxito en el tratamiento de la anorexia nerviosa.

Los planteamientos de Gull y Lasègue, citados en los artículos que recogemos en la Tabla 3, ofrecen una buena descripción de los signos y síntomas presentes en la anorexia nerviosa, a los que ambos reconocen un denominador común: el “origen psicológico” del trastorno. Además, coinciden al señalar la mayor incidencia en mujeres adolescentes de 15 a 20 años, la exagerada actividad física de las paciente a pesar de su estado de desnutrición, el papel perjudicial de la familia (en sus intentos de asistir a las pacientes), la inadecuación de estimulantes gástricos o purgantes para su tratamiento...etc.

Aunque Lasègue reconoce una mayor influencia de la atmósfera familiar en el curso del trastorno, ambos clínicos coinciden en la necesidad de separar a la paciente de su familia para ser puesta en manos de un profesional médico. Lasègue describe con más detalle la inutilidad de los consejos amistosos o la intimidación ya que *“L’excès d’insistance appelle un excès de résistance”* [“El exceso de insistencia, provoca un aumento de la resistencia”] (Lasègue, 1873, p.393), y *“prier ou renacer, et qui servent l’une et l’autre comme de pierre de touche”* [el ruego y las amenazas son igualmente ineficaces]. Sin embargo, existen algunas diferencias en las sugerencias para el tratamiento. Mientras que el enfoque de Lasègue se centra en la naturaleza histórica del trastorno *“le meilleur moyen de doubler l’opiniâtreté des hystériques, c’est de laisser percer la supposition implicitement ou explicitement ou explicitement exprimée que si elles voulaient elles pourraient dominer leurs impulsions malades”* [“el mejor medio de doblegar la obstinación de las histéricas es dejar caer la suposición, expresada explícita o implícitamente, que si ellas quisieran podrían dominar sus impulsos enfermizos”] (Lasègue, 1873, p. 393), Gull, desde una perspectiva estrictamente médica, reconoce la incapacidad de la paciente y de los familiares para tomar decisiones con respecto a su restablecimiento. Así, afirma que: *“The inclination of the patient must be in no way consulted”* (Gull, 1873, p. 24), siendo necesaria una cierta autoridad moral para manejar a la paciente: *“Food should be administered at intervals varying inversely with the exhaustion and emaciation.... The patients should be fed at regular intervals,*

and surrounded by persons who would have moral control over them; relations and friends being generally the worst attendants” (pp. 24-26).

Durante el primer tercio del siglo XX, el tratamiento de la anorexia nerviosa estuvo dominado por una concepción estrictamente médica. Los médicos, atraídos por los avances en endocrinología, concibieron la base de las manifestaciones de la anorexia nerviosa como consecuencia de: *“a primary deficiency or disharmony of the internal secretions”* (Ryle, 1936, p. 893), de modo que, el tratamiento de la anorexia nerviosa estuvo condicionado durante más de 30 años, por la utilización de diferentes preparados hormonales existentes en la época (tiroideas, ováricas), así como tratamientos a base de insulina y complejos vitamínicos (Brumberg, 1988). El apogeo de esta interpretación médica del trastorno se alcanza en 1914, con la descripción realizada por Simmond de la afectación hipofisaria de una paciente fallecida tras un proceso de desnutrición extrema. El análisis post-mortem de esa paciente reveló un proceso de degeneración de la glándula pituitaria, por lo que el diagnóstico de caquexia pituitaria del Mal de Simmond⁶ se generalizó, a todas las pacientes que presentaban el cuadro característico descrito por Gull y Lasègue. Esto provocó que numerosos casos de anorexia fueran frecuentemente diagnosticados y tratados como si de este trastorno pituitario se tratase⁷ (Brumberg, 1988; Escamilla y Lisser, 1942; Gordon, 1998), por lo que la anorexia nerviosa dejó de ser considerada un trastorno psicológico con graves manifestaciones físicas, tal y como lo habían descrito Gull y Lasègue. A resultas de esta confusión, el concepto de anorexia nerviosa se volvió borroso, perdió su estatus como entidad diagnóstica y pasó a ser considerado como un trastorno pituitario (Sibley y Blinder, 1988).

En la tarea de recuperación de la anorexia nerviosa como un cuadro con entidad propia diferenciada del Mal de Simmond, jugó un papel importante el reconocimiento del fracaso de los tratamientos hormonales y las

⁶ Durante dos décadas, la descripción del Mal Simmond tuvo una gran difusión mientras que la anorexia nerviosa como entidad diagnóstica quedó prácticamente relegada al olvido, a excepción de algunos trabajos que presentaban series de pacientes como los trabajos de Berkman con 117 pacientes, Venables, más modesto, con 9 pacientes (1930) y los 7 casos descritos por Allison y Davies (1931), apenas existían referencias al cuadro en la literatura.

⁷ Escamilla y Lisser (1942) estiman que este error de diagnóstico concretamente afectó a 499 pacientes con anorexia nerviosa que, entre 1914 y 1942, fueron erróneamente diagnosticados y tratados.

aportaciones de autores como Farquharson y Hyland (1938) que advertían que la anorexia nerviosa: *“bears a superficial resemblance to that a Simmond’s disease, it is actually quite distinct and different”* (p.225). Sin embargo, la diferenciación entre el Mal de Simmond y la anorexia nerviosa, con la vuelta al primer plano de la relevancia de los factores psicológicos y su impacto en la función endocrina, se atribuye fundamentalmente a los trabajos de Ryle (1936) y Richardson (1939). Esta defensa de los factores psicológicos que Ryle basaba en su propia experiencia con 51 casos de anorexia nerviosa (1936), se vio acompañada en el tiempo por numerosas publicaciones que abundaban en este origen psicológico del trastorno, a la vez que lo diferenciaban claramente de la caquexia de Simmond (Berkman, 1939; Bruchner, Wies y Lavietes, 1938; Cross, 1939; Evans, 1939; Farquharson, 1941; Farquharson y Hyland, 1938; McCullagh y Tupper, 1940; Morlock, 1939; Palmer y Jones, 1939; Parde, 1941; Richardson, 1939).

Esta delimitación diagnóstica, que apunta la implicación de los mecanismos psicológicos y el impacto emocional en la función endocrina, fue el principal aspecto tratado en la reunión “The Schorstein Memorial Lecture” celebrada en 1939, en el London Medical Hospital. Incluso desde una perspectiva actual, es interesante detenernos brevemente en las recomendaciones que se aportaron en dicha reunión, basadas en el reconocimiento de la dimensión psicológica del trastorno, un factor inherente a todas las aportaciones posteriores a 1936.

Paralelamente a este resurgimiento de los aspectos psicológicos en la etiología del trastorno, una nueva serie de recomendaciones para su tratamiento aparece en la literatura, conectando con las recomendaciones originariamente propuestas por Lasègue. Un buen ejemplo de estas recomendaciones se encuentra en las páginas del “Proceedings of the Royal Society of Medicine” que recoge una conferencia presentada por Ryle el 24 de Enero de 1939, y los comentarios suscitados por otros colegas allí asistentes. Así, el tratamiento se limitaría únicamente a recomendar al terapeuta manejar la situación con firmeza y amabilidad (Ryle, 1939; Yelowlees, 1939), insistiendo en los beneficios de la ingesta para revertir el proceso de inanición

(Ryle, 1939). Una vez ganada la colaboración de la paciente, el inicio del tratamiento consiste en promover su deseo de recuperación con conversaciones francas y sencillas; y cuando se producía una ganancia de peso significativa, ni tan siquiera era necesario entrar en más profundidades sobre los motivos que llevaron a la paciente a su estado (Hurst, 1939). De acuerdo con esto, no es de extrañar que las contribuciones realizadas por Ryle y Yellowlees en dicha reunión, coincidiesen al advertir que el empleo de *“elaborate psychotherapy”* (Yellowlees, 1939, p. 746), o *“elaborate psychiatric methods”* (Ryle, 1939, p. 737) eran absolutamente innecesarios para restaurar el estado nutricional del paciente. Otro de los asistentes a esa reunión, el Dr. Parkes Weber, menos diplomático que los anteriores, va más allá al usar el calificativo “criminal” para referirse al tratamiento con psicoanálisis: *“in severe cases of anorexia nervosa it seemed to him almost criminal to waste time in anything like psycho-analitis investigations (however interesting they might be) at the commencement of treatment”* (Weber, 1939, p.745).

Sin embargo, todas estas recomendaciones cayeron en saco roto con la irrupción del psicoanálisis en la explicación del trastorno. Los trastornos psicológicos que para Ryle eran *“usually of simpler type, and partly, maybe, through the natural resilience of childhood”* (1939, p.737), pasan a ser concebidos como una complicada elaboración de un *“wish to be impregnated through the mouth which results, at times, in compulsive eating, and at other times, in guilt and consequent rejection of food, the constipation symbolizing the child in the abdomen and the amenorrhea as a direct psychological repercussion of pregnancy fantasies”* (Waller, Kaufman y Deutsch, 1940, p.15). De esta manera, la anorexia nerviosa queda conceptualizada por el psicoanálisis como una expresión del rechazo de la sexualidad y más concretamente la defensa frente a los deseos de impregnación oral.

El germen de esta teorización se puede remontar hasta un caso citado por Alexander en 1939, en el que la preocupación de una adolescente anoréxica al conocer el embarazo de compañeras de colegio le lleva a dejar de comer temiendo que se le abulte el vientre y acabe embarazada al igual que ellas. Es relevante mencionar, como cita el mismo autor, que esta

“confesión” de la adolescente se produce cuando la relación terapéutica ya estaba establecida, es decir después de un proceso de análisis relativamente largo. Un año más tarde esta modelación nueva, basada en confesiones y simbolismos, es una elaboración exquisitamente fundamentada en las derivaciones psicoanalíticas, asociando esta explicación infantil al interés creciente por la sexualidad (que en aquellos años estaba vedado a los adolescentes). Por otro lado la ausencia de información o la explicación folklórica e imprecisa de los cambios físicos y hormonales, acabó creando una amalgama, al menos en los sesudos analistas, entre menstruación, los impulsos sexuales, la ingestión y el embarazo (Lorand, 1943; Masserman, 1941; Waller et al., 1940). De acuerdo con esto⁸, la anorexia nerviosa representa un conflicto emocional más profundo en la mente del paciente, de acuerdo con lo cual, como señalaba Du Bois, para la gran mayoría de los psiquiatras, - *“It is the neurosis and not the appetite that must be the prime focus of attack by the physician”*- era la neurosis y no el apetito lo que debía ser tratado- (Du Bois, 1949, p.114).

Durante aproximadamente dos décadas, el rechazo a la comida fue interpretado únicamente en términos simbólicos, desviándose de su función biológica original, desatendiendo el grave problema de desnutrición de las pacientes además de las secuelas físicas y psicológicas asociadas. Los psiquiatras formados en psicoanálisis cautivados por la - a sus ojos - compleja dinámica de la estructura de la personalidad de las pacientes, buscarán la naturaleza de su conflicto, indagando en el tipo de relaciones que establecen con sus familiares, aceptando la terapia psicoanalítica para abordar el tratamiento de la anorexia nerviosa (Lorand, 1964; Moulton, 1942; Sours, 1974).

⁸ Una segunda elaboración psicoanalítica, de la anorexia nerviosa se centra en el sentimiento de dependencia y los problemas de autonomía de la paciente en la adolescencia, o lo que es lo mismo, su “infantilismo psicológico” (Eissler, 1943; Lorand, 1943). El núcleo de esta elaboración pasa a ser la relación ambivalente que se observa entre las madres (que suelen ser dominantes e intrusivas) y las hijas que padecen anorexia; además se afirma que la comida y la alimentación, integran una parte importante de esta relación. Según esta nueva interpretación, el valor simbólico de la comida pasa de ser un agente de fecundación alegórico, a estar dotado de una carga afectiva y emocional capaz de representar el “amor de una madre hacia sus hijos”. Los intentos del paciente por ser independiente, desarrollando la autonomía normal de cualquier adolescente, se contraponen a su deseo inconsciente de “dependencia infantil” que demanda la atención de su madre, siendo el rechazo de la comida una respuesta a este tipo de relación.

El psicoanálisis había dejado fuera de enfoque y en un segundo plano aquellos aspectos conductuales del trastorno como la alimentación restringida y las consecuencias médicas asociadas a la desnutrición. Desde el punto de vista psicoanalítico tenía sentido no preocuparse de esos “síntomas” ya que lo esencial residía en el conflicto central.

Sin embargo, este desinterés por la inanición de las pacientes no va a permanecer durante mucho tiempo fuera de las prioridades del tratamiento ya que, por un lado cada vez es más patente la ineficacia de los tratamientos psicoanalíticos, y por otro, entra en escena un nuevo factor; la evidencia de los devastadores efectos psicológicos, no ya los físicos, que provoca la desnutrición, con los estudios⁹, del Doctor Ancel Keys de la Universidad de Minnesota aspecto que ya había sido señalado por Berkman (1944) cuando alertaba que los síntomas psíquicos *“should be remembered that these reactions are the results of the effect of starvation on the individual’s mental make-up”* (p. 681).

El hecho de que muchos signos y síntomas neuróticos y depresivos presentes en la anorexia fueran resultado directo de la inanición (Berkman, 1944; Shiele y Brozek, 1948), como mínimo fue un primer factor corrector de la prioridad de la psicoterapia profunda en la anorexia nerviosa, como ya aparece claramente en la recomendación de Kay y Leight: *“psychotherapy is not the treatment of choice unless (1) there is no urgency, (2) a good relationship can be quickly established and, (3) the patient is able to formulate a complaint which can be used as a basis for therapy”* (1954, p. 427).

⁹ En el estudio de la Universidad de Minnesota, 36 hombres sanos física y mentalmente, aceptaron participar en un estudio que implicaba una reducción progresiva de la dieta durante 6 meses con el propósito de alcanzar una pérdida de peso aproximada del 75% de su peso inicial. Durante la fase de restricción calórica, se produjeron una serie de cambios físicos y psicológicos, similares a los que se registran en la anorexia nerviosa. tales como: disminución de la necesidad de sueño, disminución de la temperatura corporal acompañada de una mayor intolerancia al frío, disminución de la frecuencia cardíaca y respiratoria y molestias gastrointestinales. Simultáneamente a esta serie de cambios físicos, los voluntarios mostraron un incremento de las preocupaciones relacionadas con la comida, llegando incluso a coleccionar utensilios y recetas de cocina, comiendo lentamente y cortando la comida en pequeños trozos. Psicológicamente, se volvieron más irritables, ansiosos y depresivos, mostrando un creciente aislamiento social y desinterés por el sexo opuesto (Franklin, Schiell, Brozek y Keys, 1948; Keys, Brozek, Henschel, Mickelsen y Taylor, 1950).

Sin embargo, como se refleja en la referencia al artículo de Dally y Sargent (1960) en la Tabla 4, la tarea de renutrir a las pacientes comenzaba a ser una tarea más difícil de lo que se desprendía de la recomendación de Gull.

Tabla 4. Esbozo del panorama de la anorexia nerviosa en la primera mitad del siglo XX, Dally P. J. y Sargent W. (1960). A new treatment of Anorexia nervosa, BMJ, p. 1770. (Véase traducción en Anexo 3).

He [Gull] thought the prognosis was on the whole a favourable one, but doctors have since found these patients very unwilling to eat despite all the "moral" and other kinds of persuasion given. In recent years frank pessimism has sometimes been expressed about the eventual outcome of treatment. A recent study from the Maudsley Hospital showed that 15% of patients in the group followed up had died from the illness or its complications.

Hormone preparations, including thyroid, insulin, and cortisone, have all been tried with little effect. Electric shock has frequently been given, but the results are far from encouraging, and more harm than good may be done unless there is marked endogenous depression. Because of the unsuccessful results of treatment in so many patients, one of us (Sargent, 1951) treated selected chronic cases by modified leucotomy, and suggested that this was preferable to the much graver risks of allowing states of inanition to continue indefinitely. Since then the fashion in treatment has returned almost to where it started. In Gull's time, tube feeding was sometimes used as a last resort, but most workers since then have agreed that it is most undesirable from a psychological point of view. Yet within the last two years papers have again been published advocating a routine use of tube feeding as the most practical and best alternative to modified leucotomy (Williams, 1958 ; Wall, 1959).

In a letter on the general undesirability of tube feeding in this disease, we mentioned the use of a new method of treatment in which modified insulin treatment was combined with large doses of chlorpromazine (Dally, Oppenheim ySargent, 1958).

A la vez, comienza dibujarse un panorama más sombrío con respecto a la evolución del trastorno y el comienzo en la utilización de psicofármacos, y se esboza el inicio de una perspectiva multidisciplinar, que acabará dominando la escena en la teorización y el tratamiento hasta la actualidad. Uno de los primeros antecedentes de esta nueva perspectiva se encuentran en el artículo de Shiele y Brozek (1948) "*Experimental neurosis" resulting from semistarvation in man* :

The greater variation of the psychologic manifestations of starvation was due to etiologic complexity of the behavioural response [...] The behavioural, emotional, and social manifestations of starvation may be looked upon as psychosomatic phenomena in a broad sense; that is they are results of a complex interaction between anatomic, physiologic, individual-psychologic, and a social - psychologic factors. (pp. 46-47)

Sin embargo esta concepción, aunque fue retomada en alguna ocasión (e.g. Du bois, 1949), fue definida con mayor precisión 18 años más tarde, por Kidd y Wood (1966), en su artículo “*Some observations on anorexia nervosa*”:

The disease process comprises a complex interplay of physical, psychological, endocrinological, metabolic and electrolytic dysfunction...Medical, endocrine, metabolic, psychiatric aspects of treatment cannot be considered separately. (pp. 443-447)

2.2. La multidimensionalidad a escena

Por lo que respecta al trastorno, desde principio de la década de los 60 del siglo XX, se abre camino la concepción de la anorexia nerviosa, que aun se puede considerar dominante hoy en día, formulada por Hilde Bruch (Skärderud, 2009). A pesar de recibir una extensa formación en psicoanálisis, Hilde Bruch ofreció una reinterpretación menos profunda de la personalidad en la anorexia nerviosa, centrada en las alteraciones del desarrollo evolutivo y en la organización del yo, resultante del desequilibrio durante la infancia entre las respuestas apropiadas a los indicios que parten del niño y la estimulación que recibe del exterior (fundamentalmente de la madre y en torno a la alimentación debido a la incapacidad de ésta para reconocer correctamente las señales y necesidades del niño y su incapacidad para responder de forma efectiva a la reducción de tensiones y su satisfacción inmediata). Si las respuestas a los indicios del niño “*son inapropiadas o contradictorias de forma continuada, acabará incapacitando el desarrollo de un sentido de pertenencia de su propio cuerpo, y experimentará en cambio que él no tiene el control de sus funciones, con una ausencia total de conciencia de estar viviendo su propia vida*” (Bruch, 1966, p. 564). Durante la adolescencia, esta conciencia distorsionada del funcionamiento corporal y del propio concepto corporal, colapsarán el avance hacia la autonomía y la identidad personal, manifestándose la tríada nuclear de la anorexia nerviosa: a) alteraciones en el sentido de eficacia y

competencia; b) alteraciones en la percepción de sus sensaciones viscerales y afectivas y c) distorsiones de la imagen corporal (Bruch, 1961, 1962, 1969, 1970). De acuerdo con esta concepción las directrices de su línea terapéutica irán dirigidas fundamentalmente a intentar reparar los defectos conceptuales y distorsionados del paciente, incidiendo en su arraigado sentimiento de ineficacia e impotencia al verse incapaces de tener control de su vida¹⁰.

Para ello, el terapeuta debe acercarse a la paciente con una actitud ingenua y de escucha, estimulando la curiosidad y sensibilidad de la paciente hacia ella misma, y evitando las interpretaciones en favor de un enfoque más empírico cercano a los elementos que configuran la experiencia de la paciente -“*fact finding, non interpretive approach*” (Bruch 1973, p. 336). Hilde Bruch (1970, 1973) fue muy tajante contra la actitud de superioridad, ya que decir a la paciente como se debe sentir y pensar, sólo haría reforzar su sentido de la ineptitud esencial que interferiría con el desarrollo de una auténtica auto-conciencia y confianza en sus propias habilidades psicológicas.

Sin embargo, sus recomendaciones para el tratamiento no tuvieron tanta repercusión como su concepción de los elementos esenciales del trastorno. En la década de los 60 es evidente que todos los intentos hasta la fecha de restaurar “el deseo de comer en los pacientes” habían fracasado tanto si no se prestaba atención a las justificaciones de las pacientes (Gull), como si se intentaba un abordaje más profundo (Waller et al., 1940), por medio de la reeducación (Mayer, 1963), o de la misma psicoterapia planteada por Hilde Bruch (Bruch, 1962). La emaciación y sus graves consecuencias físicas habían permanecido tan inmanejables, como refractaria a cualquier intento de psicoterapia era su disposición a no ingerir alimento. De hecho, desde la década de 1960, se puede decir que estos aspectos transcurren por separado, pasando a ocupar los tratamientos farmacológicos un papel más preponderante en el intento de abordaje clínico.

¹⁰ Este modelo de psicoterapia establecido por Bruch, convivió en el tiempo con otro tipo de acercamiento familiar, desmarcados de los planteamientos psicoanalíticos encabezado por Salvador Minuchin (Minuchin, Baker, Rosman, Liebman, Milman, y Todd, 1975; Minuchin, Rosman, Baker y Liebman, 1978) y Mara Selvini Palazzoli (1963) que de acuerdo con sus planteamientos familiares popularizaron la entrada de la terapia familiar en la escena de los tratamientos de la anorexia nerviosa.

El lugar de la psicoterapia y los consejos va a ser sustituido, de forma agresiva al principio, por los programas operantes que se instalan con toda fuerza en los internamientos hospitalarios, organizando las contingencias que regulan el día a día de las pacientes para inducir la ganancia de peso (Bachrach, Erwin y Mohr, 1965; Bhanji y Thompson, 1974; Blinder, Freeman y Stunkar, 1970; Halmi, Powers y Cunningham, 1975). Aunque estos programas conductuales no son una solución a las recaídas¹¹, suponiendo la mayor parte de las veces que la paciente “se coma el camino fuera del hospital”, se han convertido en un elemento omnipresente en el tratamiento multidisciplinar del trastorno¹².

Durante la década de 1970 a 1980 aparece el último eslabón que va a configurar la concepción multidimensional actual, como son los aspectos sociales y culturales, a los que se concederá una gran importancia en la expresión y en la propia fenomenología del trastorno. La presión sobre la apariencia y la silueta, impuesta por los cánones de belleza propagados por el mundo de la moda, encontrará en la adolescente pre-anoréxica de Bruch (sumisa, obediente, temerosa a la desaprobación social, carente de criterio propio y sin una identidad fuerte), una víctima propiciatoria para intentar lograr ser una mujer de éxito. Este papel preponderante de los factores socioculturales aparece reflejado claramente en el libro *Anorexia nervosa: A multidimensional approach* (Garner y Garfinkel, 1982).

De acuerdo con este planteamiento multifactorial los factores somáticos, psicológicos y sociales van a negociar desde la predisposición, hasta el desencadenamiento y el mantenimiento del trastorno. El tratamiento debe de ser multifacético, abordando los diferentes componentes de la multifactorialidad. Sin embargo los inconvenientes que lleva asociados el enfoque multidimensional están también presentes en el tratamiento que inspiran, como son la falta de especificidad y la dificultad para distinguir la

¹¹ Este aspecto es palmario en la actualidad, como se reconoce incluso en la Tabla 2.

¹² A este respecto, cabe señalar que el mismo nivel de eficacia se puede alcanzar con programas menos severos asociados con un menor número de restricciones en los privilegios de las pacientes durante su estancia en el hospital (p. ej el tiempo que el paciente puede pasar fuera de la cama, o fuera de la unidad, la autorización para hacer ejercicio físico o recibir visitas) (Touyz, Beumont, Glaun, Philips y Cowie, 1984).

contribución separada de los componentes y el peso de la interacción (Campbell, 1995). Además, la etiqueta multifactorial (multidisciplinar, multifacético), como afirmaba el profesor Peter Beumont (1998) corre el riesgo de convertirse en un cliché políticamente correcto, más útil para ocultar lo que no sabemos que para afirmar lo que sí sabemos: *“The contention that their aetiology is multidimensional (Garfinkel y Garner, 1982) is more useful to hide what we do not know than state what we do”* (p. 27), como en el mismo sentido abundan Fetissov, Hamze Sinno, Coquerel, Do Rego, Coëffier, Gilbert, Hökfelt y Déchelotte (2008) cuando afirman: *“The etiology of eating disorders is believed to be multifactorial, which signifies that the exact biological mechanisms responsible for development of these disorders are still poorly understood”* (p. 854).

2.3. "Is evidence based treatment of anorexia nervosa possible?" - Barely, (¿Existe un tratamiento basado en la evidencia para la anorexia nerviosa? - Apenas)

Comenzábamos el capítulo comentando el “exceso de optimismo” con el que el Profesor Fairburn en el 2005, respondía a la pregunta: *“Is evidence-based treatment of anorexia nervosa possible?”* Su respuesta- *“Barely”* contrasta con la ausencia de eficacia documentada en la literatura con respecto al tratamiento de la anorexia nerviosa. En una publicación reciente el Prof. Per Södersten y sus colegas del Karolinska Institute (Ioakimidis, Zandian, Bergh y Södersten, 2009) señalaban como desde la publicación del Prof. Ben-Tovim en The Lancet (Ben-Tovim, Walker, Gilchrist, Freeman, Kalucy, y Esterman, 2001), se han publicado más de 3.500 artículos sobre “anorexia nerviosa”, pero no han significado ningún avance en la eficacia de los tratamientos.

Así, aunque la eficacia acumulada durante la primera mitad del siglo XX ya advertía de los pobres resultados de los tratamientos en la anorexia nerviosa (Kay y Leigh, 1954), apuntando que su inclusión dentro de los desórdenes psicosomáticos, no había aportado ningún beneficio (Cobb, 1950),

durante la segunda mitad del siglo XX, la conclusión de las revisiones de la literatura continúan señalando el mismo panorama desalentador (Steinhausen, 2002; Striegel-Moore y Bulik, 2007).

Esta perspectiva es tanto más preocupante cuando tenemos en cuenta dos aspectos; a) los elevados índices de recaídas tras la hospitalización, sobre todo el año posterior (Attia y Walsh, 2009), y b) que sólo el 10% de pacientes está libre de síntomas 10 años después del diagnóstico (Von Holle Pinheiro, Thornton, Klump, Berrettini, Brandt, Crawford, Crow, Fichter, Halmi, Johnson, Kaplan, Keel, La Via, Mitchell, Strober, Woodside, Kaye, y Bulik, 2008).

Por lo que se refiere a los tratamientos psicosociales (terapia familiar, terapia cognitiva, interpersonal, conductual, cognitivo-conductual, etc.) la evidencia o bien es escasa, o bien se encuentra limitada por ciertos aspectos metodológicos como la ausencia de estudios de replicación, la ausencia de grupos de control adecuados y procedimientos de aleatorización de pacientes, o las reducidas muestras de pacientes (Keel y Haedt, 2008).

Dos excepciones al respecto se refieren al estudio de McIntosh et al. (2005) en el que los autores comparan dos tratamientos manualizados especializados (terapia cognitivo-conductual y psicoterapia interpersonal) con un tratamiento de control de terapia de manejo clínico de apoyo no-específico. Paradójicamente, y en contra de las expectativas de los autores, el grupo de control que recibió una terapia de apoyo no-específica obtuvo mejores resultados que los grupos que recibieron tratamientos especializados y manualizados¹³.

Una mención aparte merece la eficacia del enfoque de terapia familiar del Maudsely de Londres con adolescentes menores de 18 años que viven con sus familiares y que padecen anorexia nerviosa aguda de corta duración. Agras y Robinson (2008) en su artículo *"Forty years of progress in the*

¹³ Estos resultados ponen en entredicho algunos indicios de utilidad de la terapia cognitivo-conductual en el tratamiento post-hospitalario de la anorexia nerviosa (Pike, Wals, Vitousek, Wilson y Bauer; 2003).

treatment of the eating disorders”, señalaban que esta modalidad de tratamiento era la única con resultados prometedores dentro del yermo panorama de ausencia de eficacia: *“there are still no evidence-based treatments for anorexia nervosa, although a specific form of family therapy (based on the Maudsley model) appears promising”* (p.19).

Esta evidencia prometedora con respecto a la terapia familiar arranca de un estudio realizado en Londres donde un tipo de terapia familiar (que no parte de supuestos familiares causales en la anorexia nerviosa) parecía ser eficaz (Russell, Szmukler, Dare y Eisler, 1987). Esta modalidad de tratamiento ha despertado un gran interés por aspectos tales como su manualización (Lock y Le Grange, 2001), coste de la eficacia (Locke, Couturier y Agras, 2008), comparación entre modalidades de terapia familiar (Eisler, Dare, Hodes, Russell, Dodge y Le Grange, 2000; Eisler, Simic, Russell y Dare, 2007), papel de factores predictores y moderadores (Le Grange, Crosby y Lock, 2008). Tanto la evidencia de estudios naturalistas de registro de casos (Lock, Le Grange, Forsberg y Hewell, 2006), como de estudios controlados (Loeb, Walsh, Lock, Le Grange, Jones, Marcus, Weaver, y Dobrow, 2007), han generalizado la impresión de que al menos existe un tratamiento eficaz en la anorexia nerviosa (Eisler, Dare, Russell, Szmuckler, Le Grange, y Dodge, 1997; Hodes, Eisler y Dare, 1991; Lock, 2002; Lock, Agras, Bryson y Kraemer, 2005; Lock, Couturier y Agras, 2006; Lock y Le Grange, 2005).

Sin embargo, estos estudios no han dejado claro que la terapia familiar produzca a largo plazo mejoras con respecto a la terapia individual, por lo que el buen resultado original puede ser un mecanismo del curso natural de la enfermedad, (Bergh, Osgood, Alters, Maletz, Leon y Södersten, 2006; Fairburn, 2005), o deberse a factores no específicos de la relación terapéutica (Robin, Siegel, Moye, Gilroy, Dennis y Sikand, 1999), o a un efecto concreto sobre la conformidad de los padres respecto a las recomendaciones del tratamiento (Guarda, 2008).

Si la eficacia de los tratamientos psicosociales es limitada, otro tanto se puede afirmar de la evidencia acumulada con respecto a los tratamientos farmacológicos. Crow, Mitchell, Roerig y Steffen (2009), despachan el asunto con la siguiente conclusión:

En la actualidad no existe evidencia convincente sobre la eficacia de fármaco alguno que se pueda utilizar en el tratamiento de la anorexia nerviosa, ni en su fase aguda ni en la crónica; siendo así la anorexia nerviosa uno de los pocos trastornos psiquiátricos de los que se puede afirmar tal cosa. (p. 1)

Dally, Oppenheim y Sargent (1958), miembros del Department of Psychological Medicine del St. Thomas's Hospital de Londres, fueron los primeros autores en publicar un informe que incluía el empleo de los fármacos antipsicóticos en el tratamiento de la anorexia nerviosa. Sargent remiso ante la opción de seguir practicando leucotomías a las pacientes -intervención en la que él mismo había contribuido con alguna modificación en el procedimiento (Sargent, 1951) - y consciente del fracaso de la insulina a altas dosis para restablecer el peso de las pacientes (*"to have been singularly unsuccessful in most patients, despite the hunger-producing effects of the insulin regime"* - p. 633), propone la combinación de insulina y clorpromazina, también a dosis excesivas (hasta 1000 mg/día). En una publicación posterior, Dally y Sargent (1960), informan de los efectos beneficiosos sobre el peso, la reducción de la estancia en el hospital y de la reducción de recaídas al salir del hospital. El tratamiento, que también incluía psicoterapia de apoyo y reposo en cama para evitar las posibles fracturas debido a los episodios de hipotensión provocados por el tratamiento, sin embargo, no produjo cambios sustanciales en el seguimiento con respecto a un grupo de pacientes (sin clorpromazina), aunque sí graves efectos extrapiramidales hasta en el 50% de los casos (Dally y Sargent¹⁴, 1966).

¹⁴ La utilización de la clorpromacina por parte de Sargent se debió al conocimiento, por medio de una comunicación personal del Dr. Moore del St. Patrick's Hospital de Dublin, de los efectos secundarios mostrados por la reserpina en pacientes con depresión severa.

Desde entonces, el abanico de tratamientos farmacológicos se ha extendido tanto en la variedad de principios activos como inútil ha resultado tal apertura. Como resumen, Dunican y Del Dotto (2007), señalan que:

Los fármacos por sí solos no son un tratamiento eficaz de la anorexia nerviosa, aunque a menudo son utilizados como parte de un plan de tratamiento global. Los siguientes tipos de fármacos han sido estudiados en el tratamiento de la Anorexia nerviosa: **antipsicóticos** (chlorpromazine, pimozide, haloperidol, risperidone), **estabilizadores del ánimo** (lithium), **antidepresivos** (clomipramine, amitriptyline, fluoxetine), **estimuladores del apetito** (tetrahydrocannabinol), **agentes facilitadores motilidad gástrica** (cisapride, metoclopramide), **antihistamínicos** (cyproheptadine), **antagonistas de los opiáceos** (naltrexone), y **suplementos nutritivos** (zinc). También **los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRIs)** se han estudiado de forma intensiva recientemente en el tratamiento de la AN. Sin embargo, en general los estudios realizados no han sido capaces de demostrar resultados favorables de la farmacoterapia en el tratamiento de la anorexia nerviosa. (p. 114, sin negrita en el original)

Lamentablemente para las pacientes, el efecto de la medicación es marginal, tanto sobre la ganancia de peso como sobre la sintomatología presente en la anorexia nerviosa (Attia, Haiman, Wals y Flater, 1998; Halmi, 2009; Hamilton y Royer, 2002; Jacobs y Wager, 2005), estando incluso asociada con una mayor tasa de abandono del tratamiento (Bulik, et al., 2007)¹⁵. Sin embargo, a pesar de la ausencia generalizada de eficacia documentada, la medicación sigue estando omnipresente en el tratamiento de la anorexia nerviosa ya que, como reconoce Casper (2002): *“Even if the core symptoms of AN are unresponsive to drugs, medication may be useful for all eviating negative emotions and obsessive ruminations as well as for relapse prevention”* (p. 99).

Una y otra vez, las conclusiones basadas en la evidencia con respecto a los diferentes métodos de tratamiento para la anorexia nerviosa, señalan una eficacia limitada. Pese a esto, no deja de recomendarse un enfoque multimodal de tratamiento que: *“Besides different treatment settings, comprising nutritional*

¹⁵ Esta renuncia y oposición a recibir tratamiento se debe fundamentalmente a la ausencia de conciencia de enfermedad y a la negación de cualquier problema por parte de la paciente. La Prof. Regina Casper (1998) ha llegado incluso a incluir esta característica (lack of concern) como un rasgo esencial de la anorexia nerviosa. Es interesante señalar que ya Kay (1953) señalaba este mismo comportamiento huido de las pacientes con respecto a los psicoanalistas, lo cual hace más comprensible los resultados de McIntosh et al., 2005 mencionados previamente.

rehabilitation, nutritional counseling, individual psychotherapy and family-based interventions emphasising a group psychoeducation program for parents is presented” (Herpertz-Dahlmann, y Salbach-Andrae, 2009, p. 131).

En cambio, otros autores comienzan a dar señales de cansancio y alertan de la posibilidad de que la parafernalia en torno al peso que implica el tratamiento convencional de la anorexia nerviosa, con el que abrimos el capítulo en la Tabla 1, nos haya llevado por una senda equivocada. El resumen del artículo reciente de Brian Lask e Ian Framptom (2009) es el que mejor refleja este cambio de actitud:

Anorexia nervosa is a condition full of irony and paradox. Perhaps the most enigmatic of these is that professionals tend to hold the same morbid preoccupation with weight BMI and targets as do ourpatients. In this article we outline why we believe that an over-emphasis on weight/BMI and targets is inappropriate, misleading and potentially harmful. Although this view is not always greeted with enormous enthusiasm by some, others are relieved that this particular ‘holy cow’ is at last being challenged. It is important that we should all have an open mind to the possibility that one of the main tenets of our practice may actually be unhelpful. (p.165)

Una valoración de la evolución de las diferentes alternativas de tratamiento desde William Gull nos permite situar el significado del término “evolución” en su justa medida, ya que aunque habitualmente suele asociarse con sinónimos tales como progreso, desarrollo, mejora y adelantamiento, términos que habitualmente se emplean como sinónimos, estos matices no forman parte del término evolución. Así, de las diferentes acepciones que aporta la Real Academia Española de la lengua, en séptimo lugar aporta la definición de: “Desarrollo o transformación de las ideas o de las teorías”. Y esto es lo que ha ocurrido: una transformación de los elementos conceptuales y terapéuticos.

En esta evolución, o transformación, ha predominado la poca productividad de las diferentes concepciones de la anorexia nerviosa, hasta el punto que una investigadora tan relevante y galardonada como Katherine Halmi comience su artículo *Perplexities and provocations of eating disorders*

(2009) con una afirmación tan rotunda acerca de este devenir histórico: *“Etiological hypothesis of eating disorders, anorexia nervosa and bulimia nervosa have not produced informative research for predictably effective treatments”* (Halmi, 2009, p. 163).

No obstante, se ha producido una transformación de los elementos terapéuticos, pasando por diferentes estados hasta desembocar en la recuperación de algunos elementos terapéuticos que habían sido completamente ignorados, probablemente “ser conscientes de esto” genera un punto de inflexión, que impulsa la consideración de nuevos planteamientos, como el de Brian Lask e Ian Frampton.

Si hubiéramos ignorado el pasado y la historia, no nos sería fácil reconocer en los planteamientos actuales, como el que figura en la larga cita de la Tabla 1, como algunos de los elementos terapéuticos, objetivos, recomendaciones y actitudes terapéuticas han estado ahí desde hace mucho tiempo, incluso algunas olvidadas durante algún tiempo, para volver a ser recuperadas como aportaciones novedosas.

Por hacer justicia a Charles Lasègue, nos gustaría cerrar este capítulo con un fragmento de su artículo en el que se pueden reconocer tanto el elemento *“fact finding, non interpretive approach”* de Hilde Bruch, la previsión de los efectos pasajeros de los programas de renutrición operantes del tipo “privilegio cero”, e incluso la expectativa de cronicidad que hoy en día reconoce por e.g. el reciente estudio de Von Holle et al (2008):

Malheur au médecin qui, méconnaissant le péril, traite de fantaisie sans portée, comme sans durée, cette obstination dont il espère avoir raison par des médicaments, des conseils amicaux, ou par la ressource encore plus défectueuse de l'intimidation. Avec les hystériques une première faute médicale n'est jamais réparable....A cette période initiale, la secuele conduite sage est d'observer, de se taire et de se rappeler que, quand l' inanition volontaire date de plusieurs semaines, elle est devenue un état pathologique à longue échéance. (Lasegue, 1873, p. 389)

Ay del médico que, desconociendo el peligro, trata esta obstinación, que espera curar con medicamentos, con consejos amistosos o con el recurso, todavía menos indicado, la intimidación, como si fuera una fantasía sin consecuencias, como algo que va a

durar poco...En este periodo inicial, la única conducta racional es observar callarse y no olvidar que cuando la privación voluntaria de alimentos se prolonga varias semanas se ha convertido en un estado mental patológico de larga duración. (Lasegue, 1873, p. 389)

CAPÍTULO 2

Anorexia Basada en la Actividad
(ABA): un modelo análogo de
la Anorexia Nerviosa

1. Introducción: Empleo de los modelos animales en la investigación de los trastornos mentales

En el ámbito de la psicología, puede resultar extravagante y poco habitual la propuesta de un modelo animal para abordar un trastorno como la anorexia nerviosa. Sin embargo, la anorexia nerviosa no es el único trastorno psiquiátrico para el que se ha desarrollado un modelo animal, siendo muchas las disciplinas científicas que se benefician del conocimiento derivado de los modelos animales de psicopatología, (psicobiología, farmacología, neuroanatomía, psicología experimental, psicología clínica, neurociencia en general...etc.).

Históricamente, el empleo de modelos animales en el ámbito psiquiátrico ha sido observado con gran escepticismo, pero los avances técnicos y metodológicos de las últimas décadas han mejorado sensiblemente su posición, proliferando en una amplia variedad de modelos animales capaces de reproducir dos aspectos fundamentales:

- a) los rasgos característicos de algunos trastornos psicopatológicos en humanos (eg. ansiedad, depresión, esquizofrenia, autismo, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno bipolar...etc.) (Carola, Frazzetto, Pascucci, Audero, Puglisi-Allegra, Cabib, Lesch y Gross, 2008; Chen, Jing, Bath, Khan, Siao, Herrera, Toth, Yang, McEwen, Hempstead y Lee, 2006; Emamian, Hall, Birnbaum, Karayiorgou y Gogos, 2004; Tabuchi, Blundell, Etherton, Hammer, Liu, Powell y Sudhof, 2007) o
- b) la respuesta al tratamiento (Flint y Shifman, 2008).

Un aspecto importante en esta mayor presencia de los modelos animales en psicopatología está relacionado con las propias restricciones éticas de la investigación en humanos, lo que refuerza el papel otorgado a los

modelos animales análogos para el estudio de trastornos en humanos, siendo su valor para diseñar tratamientos una de las líneas más prometedoras. Esta rápida propagación de los modelos animales en el estudio de los trastornos psicopatológicos en humanos, contrasta con la falta de consenso en su clasificación. No obstante una de las posibles, es la clasificación¹⁶ de Van der Staay, Arndt y Nordquist (2009), que agrupa el desarrollo de estos modelos animales en tres áreas concretas:

1) Modelos que usan animales normales:

Aunque a simple vista pueda resultar confuso considerar a los animales sin déficits como modelos animales, su comportamiento nos proporciona datos de referencia para identificar si un comportamiento es anormal.

2) Modelos que usan animales que por su naturaleza tienen un déficit:

En este grupo de modelos, por un lado se incluyen los animales que tienen déficits asociados a la edad y por otro los animales que se caracterizan bien por tener una mutación espontánea en un determinado gen, o por reproducir de manera espontánea y endógena una condición psiquiátrica o neurológica. Además estos modelos, ofrecen una ventana experimental para los investigadores de las líneas genéticas, sobre todo para aquellos que están interesados en cepas de animales, que destacan sobre el resto, por desarrollar un valor extremo en un rasgo determinado (por ejemplo permiten seleccionar dentro de una población determinada animales agresivos y no agresivos, dominantes y subordinados... etc.).

3) Modelos que emplean animales a los que se le inducen déficits experimentales:

En este grupo de modelos se incluyen una gran variedad de animales como los transgénicos y knock-out, animales para realizar pruebas de

¹⁶ Véase el artículo de van der Staay, 2006 para una revisión más extensa de los diferentes modelos animales.

mutagénesis, animales resultado de líneas de crianza selectiva, animales con alteraciones inducidas (ya sea farmacológicamente, por estimulación eléctrica, por anoxia /hipoxia o por la composición de la dieta), animales con isquemia o hemorragia cerebral, animales con lesiones específicas en el sistema nervioso central y finalmente animales expuestos a manipulaciones ambientales.

Sin embargo, aunque habitualmente se emplee el término modelo animal de forma restrictiva para referirse sólo a ciertos tipos de animales producto de las manipulaciones neurobiológicas, como puede ser el caso del ratón *ob* o del ratón *anx*, modelos de obesidad y de anorexia nerviosa respectivamente, la denominación de **modelo animal** también hace referencia a una situación o a una prueba aplicada a un grupo de animales para evaluar sus respuestas o conductas.

Esta visión general de los modelos animales, unido a la estrecha relación que guardan la mayoría de estos acercamientos con la biología molecular, puede insinuar una preponderancia de los factores de tipo genético, sin embargo los propios estudios de genética cuantitativa han aportado evidencias convincentes de la importancia de los factores ambientales en la regulación de los comportamientos (Oliverio, Cabib y Puglisi-Allegra, 1992; Wehner, Radcliffe, Browsers, 2001).

En lo que a la anorexia nerviosa se refiere, existen modelos animales en cada uno de estos tres frentes comunes a todos los modelos de psicopatología. Así, aunque han surgido una amplia variedad de modelos de anorexia nerviosa, desde el ámbito de la investigación genética de la regulación de la ingesta (e.g., modelos Knockout, mutaciones genéticas...), también han proliferado una serie modelos de anorexia nerviosa resultado de la manipulación directa del entorno que rodea al animal, denominados modelos ambientales (Siegfried, Berry, Hao, y Abraham, 2003). Este tipo de modelos incluyen diferentes combinaciones de estrés, ya sean de tipo crónico o temporal, para reproducir

aspectos claves de la anorexia nerviosa, como la reducción de la ingesta, la hiperactividad, o alteraciones del ciclo estral (Connan y Treasure, 1998).

2. El modelo de Anorexia Basada en la Actividad

Si tenemos en cuenta la perspectiva teórica actual de la anorexia nerviosa, el desarrollo o la propia posibilidad misma de desarrollar un modelo animal análogo de la anorexia nerviosa es una cuestión difícil, sino imposible, debido fundamentalmente a la compleja interacción de genética, ambiente, cultura y sociedad que se encierra tras la concepción “multidimensional” de la anorexia nerviosa (Garfinkel y Garner, 1982; Treasure, 2007). Esta dificultad se hace todavía mayor, si añadimos que las expectativas de muchos investigadores establecen que un modelo animal debe representar el conjunto de signos y síntomas de la anorexia nerviosa, incluyendo los síntomas de la esfera psico-social. Manteniendo tales expectativas se puede entender que investigadores como Zhu y Walsh, hace ocho años en una revisión sobre los tratamientos farmacológicos para los trastornos de alimentación (una revisión excelente, por otro lado), planteasen que la ausencia de modelos animales de anorexia nerviosa, limitaba la investigación neurobiología sobre la etiología de la misma y dificultaba el desarrollo de fármacos eficaces para tratarla (Zhu y Walsh, 2002).

Es cierto que un modelo animal nunca tendrá la complejidad suficiente para explicar toda la sintomatología asociada a la anorexia nerviosa¹⁷, sin embargo, eso no descarta la importancia del empleo los modelos animales para abordar algunos aspectos característicos del trastorno. En el caso de la anorexia nerviosa, aunque existen diferentes propuestas de modelos animales (Siegfried, et al., 2003; Treasure y Owen, 1997), sin lugar a dudas el modelo conocido como Anorexia Basada en la Actividad (traducción de la denominación Activity-Based Anorexia al que nos referiremos con las siglas

¹⁷ De hecho este aspecto es generalizable a todos los trastornos psiquiátricos, dadas las limitaciones de los modelos animales para reproducir un síndrome psiquiátrico en su totalidad (Geyer y Markou, 1995; McKinney, 1988; Matthyse, 1986; Willner, 1991).

ABA), es la mejor representación de lo que significa un modelo análogo. Esto es así, ya que aunque la correspondencia entre el trastorno en humanos y el modelo animal análogo dista de ser completa, el modelo ABA, como veremos, reproduce signos básicos del trastorno en humanos, como la pérdida de peso, la alimentación restrictiva y la hiperactividad (Johansen y Schalling, 2002; Siegfried et al., 2003), constituyendo una herramienta útil para comprender la interacción entre la dieta y el ejercicio (Epling y Pierce, 1991, 1996) así como otras manifestaciones clínicas del trastorno humano.

Estas cualidades del modelo ABA no evitan reticencias en parte de la comunidad científica para los que el propio término de “análogo” (según el cual el modelo animal reproduce solo de forma parcial aspectos del trastorno humano) supone un reconocimiento de su falta de validez para representar, por homología, el trastorno humano.

Pese a todo, el modelo de Anorexia Basada en la Actividad ha atraído la atención de muchos clínicos, concibiéndolo en la actualidad como el mejor modelo de anorexia nerviosa (Gutiérrez, Vázquez y Boakes, 2002), y el mejor modelo animal análogo de cualquier trastorno mental (Casper, Sullivan y Tecott, 2008; Klein y Walsh, 2005) y ésta es la concepción del modelo en la que se inspira la presente tesis.

2.1. Antecedentes del modelo ABA

El origen de este modelo animal se remonta a un fenómeno paradójico registrado en los laboratorios desde comienzos del siglo XX, concretamente en animales privados de alimento: el aumento de actividad física (Finger, 1951; Hall y Handford, 1954; Reid y Finger, 1955; Richter, 1922; Spear y Hill, 1962). Para desarrollar esta línea de investigación, como afirmó el Prof. Robert Boakes (2006), no era necesario contar con un equipo muy sofisticado, sino que bastaba con disponer de una rueda de actividad, un aparato muy simple que ha mantenido su estructura original hasta nuestros días y que ha

posibilitado la reproducción de este fenómeno de laboratorio en laboratorio, desde hace ya casi un siglo. La rueda estándar empleada, a la que desde entonces se denomina tipo Wahmann en reconocimiento a las fabricadas inicialmente por la compañía Wahmann Manufacturing Co., de Baltimore, consta de una circunferencia hecha de un armazón de metal y malla, con un diámetro de unos 330 mm, de modo que cada vuelta que realiza la rata en el interior de la rueda (ya sea caminando o corriendo) se corresponde aproximadamente con una distancia de 1,1 metros. Estas ruedas disponían de una jaula adosada, en la que una puerta corredera gestionaba el acceso a la rueda de actividad, mientras la rueda abierta permitía que el animal se moviese libremente entre la rueda y la jaula adosada, la rueda cerrada reducía el espacio del que disponía el animal, sólo pudiendo estar en la jaula.

2.1.1. Self-starvation y producción de úlceras

Sin embargo, al margen de lo sencillo que era reproducir este fenómeno, hasta 1967, Routtenberg y Kuznesof, no estudiaron sistemáticamente cómo afectaban los programas de alimentación restringida a los animales con acceso libre a la rueda de actividad. El interés de estos autores se centró en un efecto que aparecía a los pocos días de exponer a los animales, de forma simultánea, a las dos condiciones de dieta y actividad: la auto-inanición, conocida en inglés con el término self-starvation.

No obstante, entre la aparición del artículo de Routtenberg y Kuznesof (1967) titulado: *Self-starvation of rats living in activity wheels: Adaptation effects*, y el momento en el que modelo ABA se formula como un modelo animal de anorexia nerviosa, hay un estudio que en numerosas ocasiones ha sido pasado por alto en la literatura. Este estudio fue llevado a cabo por Barboriak, Wilson, Schulte y Knoblock (1972) cinco años más tarde de la publicación de Routtenberg y Kuznesof (1967), y en él tratan de investigar si la asociación entre la auto-inanición y las muertes prematuras de las ratas, podrían deberse al cambio patológico de algún órgano y, efectivamente, señalan que los animales privados de comida y alojados en las ruedas de

actividad presentaban extensas lesiones en el estómago. Este hallazgo sugiere que el desarrollo de estas úlceras gástricas pueda ser el responsable de la reducción en la ingesta de alimento, conocida habitualmente con el término auto-inanición¹⁸. Además, como señala el propio Barboriak, la descripción morfológica de estas lesiones de estómago: *resemble the picture of "stress ulcers"* (p. 1180), fue un signo que marcó el comienzo de una productiva línea de investigación conocida como "*úlceras de estrés por actividad*" (AS) centrada en esta producción de úlceras en el estómago de las ratas con ingesta restringida y libre acceso a la rueda de actividad (Paré y Houser, 1973).

De modo que el modelo ABA y el modelo de AS (sólo difieren en el tiempo de restricción de alimentos, 1 h/día en el AS y 1,5 h/día en ABA) tienen dos fenómenos subyacentes que se observan en el transcurso del procedimiento experimental: el efecto de auto-inanición y la formación de úlceras, y curiosamente las dos líneas de investigación surgen de la investigación de Routtenberg y Kuznesof (1967), mencionando la aportación de estos investigadores explícitamente en los documentos sobre la fundación de ambas tradiciones (Epling, Pierce y Stefan, 1981; Paré y Houser, 1973). No obstante, la estrecha relación entre estos dos procedimientos, ABA y AS, fue matizada por Doerries, Stanley y Aravich, (1991). Estos autores aparte de reproducir los dos fenómenos característicos del procedimiento ABA, comprobaron que cuando las ratas habían perdido el 25% de su peso corporal inicial (machos y hembras), no mostraban evidencia de úlceras, en cambio cuando la pérdida de peso era del 30%, el 45% de los machos y el 60% de las hembras si manifestaban úlceras. De modo que tanto el procedimiento ABA como el procedimiento AS implican un dispositivo experimental similar con diferentes criterios de pérdida de peso (25% y 30% respectivamente).

¹⁸ El prefijo "auto" en el proceso de auto-inanición no implica la voluntariedad del animal para restringir su ingesta, sino que se refiere a un proceso de carácter fisiológico que se produce en los animales privados de alimento con acceso a una rueda de actividad (Epling, Pierce y Stefan, 1983).

2.1.2. ABA: de la Eastern Washington State University a la University of Alberta

Los resultados que publicaron Routtenberg y Kuznesof, llamaron la atención de Carl Cheney, un profesor de la Universidad Eastern Washington State, que se mostraba reacio a creer que los animales en condiciones de alimentación restringida por el experimentador, disminuyeran progresivamente su ingesta mientras su nivel de actividad aumentaba. Esta cuestión llevó a Cheney a replicar el experimento y contratar a Frank Epling, un estudiante universitario, que le ayudaría a llevar a cabo el procedimiento.

El procedimiento experimental era relativamente simple, Cheney y Epling (1968) sometieron a las ratas a un programa de alimentación restringida (1 hora/día) permitiéndoles acceder a una rueda de actividad durante 23 h/día, y en contra de lo que Cheney se esperaba registraron el mismo efecto que Routtenberg y Kuznesof habían informado, en sus propias palabras: *“Surprisingly, the rats ran more and more, ate less and less, lost weight, and if allowed to continue in the experiment died of starvation”* (Cheney y Epling, 1968, citado en Pierce y Cheney, 2004, p. 201).

Doce años después de ese primer contacto con el procedimiento experimental, Frank Epling, profesor asistente de Psicología en la Universidad de Alberta en Canadá, retomó la línea de investigación que había iniciado con el profesor Cheney, en colaboración con otro profesor asistente de Sociología de la misma universidad; David Pierce (Epling et al., 1981)

El punto de partida de su nuevo proyecto fue la publicación de un artículo titulado: *Hyperactivity in anorexia nervosa: a fundamental clinical feature*, publicado en 1978 en la revista *Comprehensive Psychiatric* (Kron, Katz, Gorzynski, y Weiner, 1978), que planteaba con toda rotundidad la frecuencia de hiperactividad en las pacientes con anorexia nerviosa, resaltando por primera vez en la literatura su posible relevancia clínica.

Esta relación entre hiperactividad y restricción alimentaria típica de la AN fue el vínculo de conexión con las ratas que sin ser forzadas a ello, corrían de forma excesiva en el contexto de restricción de alimentos y además mostrando el rasgo paradójico de que a medida que aumentaba la actividad en la rueda aumentaba la tendencia a reducir la ingesta (Epling y Pierce, 1988; Epling, Pierce y Stefan, 1983, Pierce y Epling, 1991). Así, la revisión exhaustiva que Kron había realizado en su artículo, es la fuente en la que se basan para afirmar que muchas pacientes anoréxicas eran excesivamente activas (Crisp, 1965, 1971; King, 1963; Halmi, 1974; Slade, 1973; Thoma, 1967) valiéndose de más de la mitad de sus referencias para consolidar su propuesta y sugerir desde el área de investigación animal, un posible modelo animal de anorexia nerviosa.

Su propuesta de que el modelo ABA era un modelo análogo plausible de la anorexia nerviosa, recogida en su artículo de 1983: *A theory of Activity-Based Anorexia*, publicado en el *International Journal of Eating Disorders*, presentaba una concepción radicalmente nueva de la anorexia nerviosa. Esta propuesta alternativa a la concepción de la anorexia nerviosa descansaba sobre dos elementos:

- Que una apreciable mayoría de los casos diagnosticados de anorexia “nerviosa” (que los autores estiman hasta un 75%) serían más bien casos de anorexia por actividad (p. 27).
- Que muchos de los síntomas psicológicos que se manejan en la anorexia nerviosa son consecuencia de la inanición (p.43).

Desde una perspectiva bioconductual, publicación tras publicación estos autores (Epling y Pierce, 1984, 1988, 1991, 1996; Epling et al., 1981, Epling, et al., 1983; Pierce y Epling, 1991,1994; Pierce, Epling y Boer, 1986) definen la anorexia por actividad en función de la disminución de la ingesta, que ocurre a medida que la actividad física se incrementa de forma progresiva. Según los autores, este círculo vicioso, que conduce a una pérdida de peso considerable,

y que en los animales acaba inexorablemente en la muerte, sería el responsable en una gran mayoría de casos de anorexia nerviosa en humanos. Esta propuesta de Anorexia Basada en la Actividad, a pesar de nacer desde el laboratorio animal, ha sido una invitación permanente a reconsiderar el papel de la hiperactividad en la génesis y mantenimiento del trastorno.

Sin embargo, aunque la interacción experimental entre la dieta y el ejercicio físico, unido al aparente paralelismo con las anoréxicas que cursan con una acusada hiperactividad (Beumont, 1984; Eisler y Le Grange, 1990, Le Grange y Eisler, 1993), ha llamado la atención de algunos clínicos, este no es el único aspecto que reproduce el modelo.

2.2. Pormenores del modelo ABA

La denominación de Anorexia Basada en la Actividad, abreviada en la literatura con las siglas ABA, fue introducida en la literatura por Epling, et al. (1983), aunque en fechas posteriores los autores han preferido la denominación de Activity Anorexia (Epling y Pierce, 1996; Pierce y Epling, 1994). Sin embargo en la investigación animal la denominación que se sigue empleando con más frecuencia es la original (Activity-Based Anorexia). De acuerdo con esa tradición nosotros hemos utilizado la denominación ABA en detrimento de otras denominaciones tales como **auto-inanición** (“self-starvation”, a partir de Routtenberg y Kusnesof, 1967), **auto-inanición inducida por actividad** (“activity-induced self-starvation” de Kanarek y Collier, 1983), y la más frecuente de **hiperactividad inducida por la semi-inanición** (“semistarvation-induced hyperactivity”, de Broocks, Liu y Pirke, 1990). Sin embargo, nuestra elección no implica que esas otras denominaciones sean incorrectas. Con mucha menor frecuencia se emplea la denominación de **estrés por actividad** (“activity-stress” de Paré y Houser, 1973), que además suele estar vinculada al estudio de la producción de úlceras.

En este punto es pertinente señalar que la denominación ABA se refiere tanto al resultado final (cuando los animales son retirados se dice que han desarrollado anorexia por actividad), como al procedimiento para su obtención que implica la simultaneidad de restricción de ingesta (1,5 h) y acceso a la rueda de actividad. Por lo que respecta al procedimiento ABA, aunque ya lo hemos señalado de pasada en párrafos anteriores, es interesante resaltar varios aspectos. En primer lugar, que la cantidad de comida administrada durante el periodo de alimentación es más que suficiente para garantizar la supervivencia de los animales, como lo muestran los grupos de control habituales que están sometidos únicamente a restricción de comida y cuya supervivencia es cercana al cien por cien. En segundo lugar, el acceso a la rueda de actividad no es obligatorio. Sin embargo, es la simultaneidad de ambas condiciones, lo que conduce a casi el 80 % de los animales a desarrollar ABA y a una muerte segura de mantenerse activas ambas condiciones, ya que en torno a un 20% de las ratas no desarrollan una actividad intensa, adaptándose al régimen de comida restringida sin perder peso de forma excesiva y en consecuencia sobreviviendo a las condiciones experimentales.

La supervivencia es absoluta si ambas condiciones experimentales se administran aisladamente la una de la otra. Es decir, los animales se adaptan con facilidad a cada una de las condiciones sin que esto suponga un riesgo para su vida, ya sea a los programas de alimentación restringida (Lambert, 1993; Routtenberg y Kuznesof, 1967), o al acceso continuado a la rueda de actividad (Carrera 2007, Epling et al., 1983; Latanzio y Eikelboom, 2003). No obstante, aunque esta interferencia de la actividad física sobre la ingesta en el modelo ABA es similar a la que se produce en humanos (Blundell y King, 2000; Edholm, Fletcher, Widdowson y McCance, 1955), en el caso de la experimentación animal con este modelo, la interacción entre estos dos aspectos que se refuerzan entre sí (Epling y Pierce, 1991, 1996) es más compleja de lo que aparenta, sobre todo si atendemos a la secuencia de cambios que aparecen previamente a que la pérdida de peso y la inanición sean extremas. Desde el momento en que el experimentador inicia el procedimiento con la retirada de alimento, en lo que se denomina Día 0, este

cambio repentino, de una alimentación *ad libitum* a un programa de alimentación restringida a 1,5 h/día hora, produce una primera depresión de la alimentación, ya que la rata en condiciones de alimentación *ad libitum* distribuye la ingesta en varias tomas al día, con lo que el inesperado cambio abrupto que se acaba de producir en su acceso al alimento, se refleja en una ingesta muy por debajo de la del día anterior. A partir de este primer día y en los días sucesivos, las ratas incrementen día a día su nivel de ingesta.

Paralelamente a estos cambios en la toma de alimento, se produce un aumento progresivo de la actividad en la rueda. La tasa de actividad diaria aumenta rápidamente, primero durante el período oscuro del ciclo de luz/oscuridad, hasta extenderse también a la fase de luz. Mientras la actividad sigue incrementándose de forma progresiva, la rata alcanza durante estos días un valor máximo de ingesta durante el período de acceso a la comida. Entretanto, la actividad sigue aumentando (pudiendo sobrepasar los 10 ó 15 kms diarios) y la actividad total (que comprende tanto el ciclo de luz como el de oscuridad) alcanza su máximo varios días después a que se registre el pico máximo de consumo de alimento, siendo éste un momento crítico en el procedimiento, ya que mientras los contadores de las ruedas de actividad alcanzan los valores máximos, la toma diaria de alimento ha comenzado a disminuir para seguir después un acelerado descenso. De no rescatar al animal en este punto del entorno experimental, una vez que se alcanza este punto de actividad máxima y se colapsa la toma de alimento, se produce un descenso de la actividad en las 24-48 horas previas a la muerte de la rata. Finalmente, el último día la rata no consume nada de alimento durante el periodo de acceso a la comida. Mientras se ha ido estableciendo ese círculo vicioso, una vez que se instaura la restricción de alimentación, los animales muestran un acentuado descenso en el peso corporal, estabilizándose ligeramente los días posteriores, para finalmente, prisionero de la reducida ingesta y la excesiva actividad, disminuir drásticamente hasta una tercera parte del peso que el animal tenía el día antes de instaurarse la alimentación restrictiva.

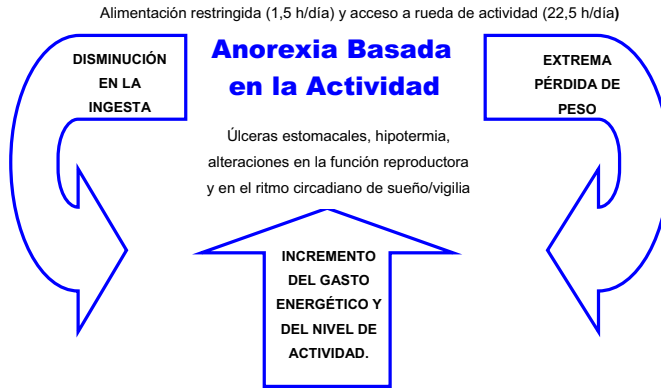


Figura 1. Principales efectos del procedimiento ABA.

Sin embargo, aunque a lo largo del procedimiento tiene lugar este torrente de acontecimientos que acabamos de describir y representar (véase Figura 1), en la investigación ABA se interrumpen las condiciones experimentales una vez que la pérdida de peso alcanza la cuarta parte (25%) del peso de animal en el Día 0, evitando así el sufrimiento innecesario que acabaría con una ulceración extensiva y la muerte por un problema de inmunodeficiencia¹⁹.

Inicialmente Routtenberg y Kusnesof (1967) definieron la supervivencia como el mantenimiento del peso corporal de acuerdo con la siguiente premisa: El peso corporal en el Día n es mayor que el peso corporal en el Día $n - 4$ (p. 415). Esta definición de supervivencia llevaba implícito el reconocimiento que una vez que las ratas han perdido el 20 % o más de su peso, su capacidad para recuperar peso en ese contexto experimental por sus propios medios era

¹⁹ Estrechamente relacionada con la línea de investigación centrada en la producción de úlceras, investigadores de la Ehime University de Japón, exploraron la posibilidad de utilizar el modelo AS como un modelo de inmunodeficiencia (Hara, Watanabe y Ogawa, 1981). El punto de partida era la discrepancia entre la frecuencia de úlceras y muertes en ratas expuestas al procedimiento AS. Esta discordancia entre ulceración y bajas sugirió que las muertes pudieran depender no sólo de la ulceración, sino también de otros factores (e.g., infecciones). Así, el procedimiento AS ha sido empleado como un modelo animal para estudiar la respuesta inmunológica ante el estrés (Hara et al., 1981; Hara y Ogawa, 1981, 1983; Hara, 1989), ya que en las ratas AS coexisten dos procesos patológicos: úlceras pépticas e inmunodeficiencia.

prácticamente imposible. Ese criterio de supervivencia implicaba, en esas primeras investigaciones, que la finalización del experimento estaba marcada por la muerte de los animales. Así, en el siguiente experimento recogido en la misma publicación, intentando evitar el sufrimiento innecesario para la mayoría de ratas que no lograban alcanzar dicho criterio de supervivencia, establecieron un criterio basado en la ingesta de modo que la retirada de las ratas se producía cuando ingerían menos de 1 g durante el período de alimentación de 1 hora (Routtenberg y Kusnesof, 1967, p. 416). Sin embargo, este criterio de retirada fue substituido por un criterio basado en la pérdida de peso corporal, situando el límite de esta pérdida en el 30% en el primer estudio realizado por Epling et al. (1981).

Dos años más tarde estos mismos autores (Epling, et al., 1983) reconocían que, aunque un criterio basado en la inanición podría ser más apropiado de acuerdo con la denominación del Anorexia Basada en la Actividad (Epling et al., 1981), un criterio basado en la pérdida de peso también era apropiado pues las ratas activas consumían menos alimento que las sedentarias.

A pesar de que el criterio de pérdida de un 25% del peso con respecto al Día 0 se aplica por igual a machos y hembras tanto en la literatura como en los estudios que se mencionan más adelante, recientemente hemos mostrado (Carrera, Cerrato, Vázquez, Sineiro y Gutiérrez, en prensa) el significado relativo para machos y hembras de la aplicación de ese criterio, teniendo en cuenta el ritmo de crecimiento esperado. Así, una pérdida del 25% de peso en una semana supone un apartamiento de más de un 40% para los machos y de un 29% para las hembras con respecto al ritmo de crecimiento esperable.

2.2.1. Factores relacionados con el desarrollo de la Anorexia Basada en la Actividad

Aunque la descripción estándar del procedimiento ABA resalta la simultaneidad de los dos factores (restricción de comida y acceso a la rueda de actividad) como los elementos cruciales en el desarrollo de la triada exceso de actividad, ingesta reducida y pérdida de peso, como se ve en la figura de la página siguiente son bastantes los factores que influyen en el resultado final. Estos factores, variables y parámetros pueden clasificarse dependiendo de si son características de los animales (sexo, edad, peso, actividad basal, ciclo estral en hembras, etc.), aspectos del procedimiento (tiempo de privación de alimento, número de comidas diarias²⁰, tiempo de acceso a la rueda, tipo de comida, calidad nutritiva de ésta, etc.), características ambientales (temperatura ambiental, ciclo de luz oscuridad, condiciones sociales implícitas a la distribución de los animales en el laboratorio²¹, alojamiento comunal vs. aislamiento social, aislamiento sensorial²²), aspectos pre-experimentales relacionados con el procedimiento (familiaridad con el programa de restricción o con la rueda de actividad) o con aspectos evolutivos de los animales (experiencia de estrés previas, manipulaciones de la experiencia de cuidado materno).

²⁰ Repartir el tiempo de acceso a la comida de dos a cuatro períodos más cortos aumenta la supervivencia de los animales (Kanarek y Collier, 1983; Lambert y Peacock, 1989; Tsuda, Tanaka, Jimori, Ida y Nagasaki, 1981), lo que se asemeja al patrón natural de alimentación con breves visitas al comedero. La importancia de este parámetro añade un paralelismo más entre el modelo ABA y la AN, en este caso debido a la evolución del patrón de alimentación de las pacientes con AN, que acaba conduciendo a una única comida al día, como al patrón impuesto a una rata de laboratorio. La recuperación, en ambos casos, pasa por una mayor frecuencia de acceso a la comida tal y como se puede leer en la primera recomendación de William Gull (1874), que aconsejaba suministrar pequeñas dosis de alimento varias veces a lo largo del día.

²¹ Concretamente alojar individualmente a ratones macho, en cajas adyacentes a las de las hembras, puede provocar que sus períodos de actividad se asocien a la fase del ciclo estral de las hembras (Baumeister, Hawkins y Cromwel 1964).

²² En cuanto a este aspecto, es importante aclarar que la actividad en la rueda se desarrolla en ausencia de cualquier sistema perceptivo. Ya sea en ratas privadas de audición a través de una intervención quirúrgica (Hall, Smith, Schnitzer y Handford, 1953), en ratas privadas del sentido del olfato (Lumia, Teicher, Salchl, Ayers y Possidente, 1992; Possidente, Lumia, McGinnis, Teicher, de Lemos, Sterner y Deros, 1990; Pieper y Lobocki, 1991), o del sentido de la vista, bien ciegas de nacimiento (Calhoun, 1945), o manipulando las condiciones de crianza (Calhoun, 1945; Yamada, Shimoda, Takahashi y Takahashi, 1986), llegando a alojarlas en completa oscuridad (Kavanau, 1971; Possidente y Stephan 1988).

Características de los animales

Peso + ↔ - Boakes y Dwyer, 1997; Paré, 1980; Yi y Stephan, 1996.

Edad + ↔ - { Hara, et al., 1981; Hebebrand et al., 2003; Paré, 1975; Woods y Routtemberg, 1971.

Sexo ♀ ↔ ♂ Carrera, 2007; Doerries et al., 1991.

Ciclo estral No ↔ Si { Dixon, Ackert y Eckel, 2003; Doerries et al., 1991.

Actividad Basal - ↔ + Paré, 1975.

Aspectos del procedimiento

Tiempo de privación de alimento - ↔ + { Boakes, Mills y Single, 1999; Collier, 1969; Collier y Levitsky, 1968; Kanarek y Collier, 1983.

Tiempo de acceso a la rueda - ↔ + Boakes, 2007.

Número de comidas diarias Varias ↔ Única { Tsuda et al. 1981; Lambert y Peacock, 1989; Kanarek y Collier, 1983.

Administración de la ración de comida Irregular ↔ Regular Pérez-Padilla y Pellón, 2010.

Tipo de comida Húmeda ↔ Seca Boakes y Juraskova, 2001.

Calidad nutritiva la comida Dieta rica en grasas ↔ Dieta estándar Barboriak y Wilson, 1972; Brown, Avena, Hoebel, 2008.

DESARROLLO DE ABA


Aspectos pre-experimentales


Pre-exposición al programa de restricción de comida. Si  No Boakes y Dwyer, 1997; Dwyer y Boakes, 1997; Lett, Grant, Smith y Koh, 2001.

Pre-exposición la rueda de actividad No  Si Routtenberg, 1968; Paré, 1975; Boakes y Dwyer, 1997; Butlin, 1978.

Aspectos Evolutivos

Experiencias de estrés previas Si  No Paré, 1986.


Manipulaciones del cuidado materno Destete temprano No  Si Glavin y Paré, 1985.

Tratamiento neonatal: Handling y Separación Si  No Carrera, 2007; Carrera, Cerrato, Sánchez y Gutiérrez. 2009.

Características ambientales

Ciclo de luz/oscuridad: sincronización de actividad con el periodo nocturno Si  No Hara et al., 1981.

Temperatura ambiente Elevada Si  No { Gutiérrez, Cerrato, Carrera y Vázquez, 2008; Morrow, Schall, Grijalva, Geiselman, Garrick, Nucción y Novin, 1997; Gutiérrez, Baysary Carrera, Whitford y Boakes, 2006.

Tipo de alojamiento Aislado  Comunal { Spatz y Jones, 2007; Cerrato, 2007.


Grupal  Individual Boakes y Dwyer, 1997; Boakes, et al., 1999.

Figura 2. Principales factores que determinan el desarrollo de ABA. La longitud de la flecha indica el peso de cada uno de los factores.

Todos estos aspectos se recogen en la Figura 2 pero no nos extenderemos en el análisis pormenorizado de cada uno de esos aspectos, ya que el objetivo de la presente Tesis Doctoral se centra en la reversión de las consecuencias de procedimiento ABA y no tanto en las condiciones que facilitan o dificultan su desarrollo. Este análisis ya fue realizado en el trabajo de investigación que se realizó para la obtención del Diploma de Estudios Avanzados (Cerrato, 2007) y pueden encontrarse revisiones tanto en Boakes (2007), en Gutiérrez et al. (2002) y en Gutiérrez y Pellón (2002).

Tampoco nos extenderemos sobre el comportamiento de otras cepas y especies de animales estudiadas con el procedimiento ABA. Aunque inicialmente el efecto de auto-inanición descrito por Routtemberg y Kuznesoff (1967), fue observado en ratas macho albinas, posteriormente ha sido descrito en diferentes especies de roedores y diversas cepas de ratón y rata (Boakes y Dwyer, 1997; Epling et al., 1981; Hara y Ogawa, 1984; Lambert y Porter, 1992; Pierce y Epling, 1991; Paré 1989a, 1989b; Watanabe, Hara y Ogawa, 1992).

Por otra parte, esta interacción que se produce entre la restricción de ingesta y la actividad física parece ser específica de las ruedas de actividad²³ (Treichler y Hall, 1962), ya que no se registra en otros aparatos para evaluar la actividad en roedores como los sistemas de túneles (Eayrs, 1954) o la cinta continua (Collier y Hirsch, 1971).

2.2.2. Actividad, pérdida de peso y ...

No hay duda de que el modelo ABA reproduce los signos del trastorno en humanos que son más conocidos, como son la pérdida de peso, alimentación restrictiva y la hiperactividad. Pero en este círculo vicioso entre dieta y ejercicio, también se producen otras manifestaciones clínicas presentes

²³ La actividad espontánea de las ratas macho alcanza el nivel máximo después de 4 - 5 semanas manteniéndose durante 7-8. Después desciende hasta un 60% del nivel máximo durante 4 - 5 meses y vuelve a descender de nuevo hasta el 25% entre los 8-9 meses de edad (Mondon, Dolkas, Sims y Reaven, 1985). En ratas hembra el incremento de actividad es mayor y se prolonga durante más tiempo (Tokuyama, Saito y Okuda, 1982).

en el trastorno humano, como son el trastorno endocrino generalizado, que afecta al eje hipotálamo-hipofisario-gonadal y que su manifestación obvia en las mujeres pospuberales es la presencia de amenorrea (o su retraso si el inicio del trastorno es anterior a la pubertad), la hipotermia, el insomnio y la aparición de úlceras estomacales (véase Figura 1), que fortalecen aún más la analogía con el trastorno humano.

Las alteraciones en la función reproductora, han sido documentadas en ratas con nutrición deficiente desde comienzos del siglo XX. Evans y Bishop fueron los primeros en describir el efecto que tenía una dieta deficiente y desequilibrada sobre el ciclo estral de las ratas, atribuyendo las alteraciones o el cese total de los ciclos a la pérdida de masa corporal (Evans y Bishop, 1922). Este aspecto ha sido ampliamente documentado en la investigación con el modelo ABA, al revelar que la pérdida de peso corporal que mostraban las ratas hembra expuestas al procedimiento, era la causa fundamental de esta interrupción en la función reproductora, ya que bastaba con eliminar el acceso a la rueda de actividad para que las ratas tuviesen sus ciclos estrales con regularidad (Dixon et al., 2003; Watanabe et al., 1992). Esta última cuestión no sólo indica la relación que existe entre la actividad física y la función reproductora en los casos de anorexia nerviosa, sino que guarda cierta analogía con un hecho bastante común que caracteriza a las mujeres deportistas: la pérdida de la menstruación (Epling y Pierce, 1996; Toro, 1996; 2004).

Por lo que respecta al trastorno humano, la amenorrea ha formado parte del conjunto de criterios diagnósticos desde los criterios de Feighner para la investigación RDC (Feighner, Robins, Guze, Woodruff, Winokur, y Muñoz, 1972), origen del DSM-III. Este reconocimiento, lo podemos ver reflejado en una cita del propio Gerald Russell, cuando afirmaba que la presencia de amenorrea era uno de los criterios que hacía sumamente fácil el diagnóstico de AN: *“Anorexia nervosa is easily diagnosed when the following triad can be established: selfinduced loss of weight, early and persisting amenorrhoea, and*

a psychopathology consisting of a fear of losing control over eating and becoming fat” (Rusell, 1978, p. 71).

La amenorrea es uno de los criterios requeridos para realizar el diagnóstico de anorexia nerviosa tanto por el DSM-IV (APA, 2000), como por el ICD-10 (OMS, 1992), no obstante recientemente se está reconsiderando su relevancia diagnóstica (Mitchell et al., 2005), ya que 1/3 de las pacientes que cumplen el primer criterio (IMC >17) no presentan amenorrea (Gendall, Joyce, Carter, McIntosh, Jordan y Bulik, 2006), pero sí las mismas manifestaciones psicopatológicas que las pacientes que cumplen el criterio de amenorrea (Bulik, Sullivan y Kendler, 2000; Cachelin y Mayer, 1998, Walters y Kendler, 1995). Sin embargo, antecedentes claros de esta reconsideración de la relevancia diagnóstica de la amenorrea se encuentran en la literatura mucho antes de la aparición de los RDC de Feighner. Así, el Dr. Sheldon en 1939, en una conferencia recogida en el “*Proceedings of the Royal Society of Medicine*”, señalaba que era erróneo otorgar a la amenorrea el mismo estatus que al resto de las características clínicas de la anorexia nerviosa. En apoyo de su postura, Sheldon mencionaba los estudios que Macgregor (1936) había llevado a cabo con enfermeras durante el primer año de formación en el “*Edinburgh Royal Hospital*”, donde casi la tercera parte presentaban amenorrea de uno a diez meses de duración. Casi setenta años después de Sheldon, Mitchell, Cook-Myers y Wonderlich (2005) llegan a la misma conclusión al afirmar que la presencia de la amenorrea no aumenta la especificidad del diagnóstico, ya que algunas pacientes con anorexia nerviosa conservan la menstruación incluso cuando su peso corporal es muy bajo. De modo que, aunque la necesidad de incluir la amenorrea entre los criterios diagnósticos es un tema actualmente en revisión²⁴, no hay ninguna duda en que es un signo característico de una gran parte de las pacientes, que además puede reproducirse fácilmente en el ámbito de la investigación animal.

²⁴ Algunos investigadores incluso señalan la probable desaparición de la amenorrea como criterio diagnóstico en el próximo DSM-V (Mitchell et al., 2005).

Otra de las manifestaciones que aparece frecuentemente en las descripciones de pacientes con anorexia nerviosa es la hipotermia (Davies, Fohlin y Thorén 1979a, 1979b; Luk y Wakelling, 1980, 1981, 1982; Wakelling y Russell, 1970). Tanto Morton como Gull se refirieron a ella en sus descripciones: **“a coldness of the whole body”** (Morton, 1689, p. 9), **“the temperature is below the normal standard”** (Gull, 1874, p. 24), como un signo característico de la anorexia nerviosa. Esta disminución de la temperatura corporal también se registra en el procedimiento experimental ABA (Hillebrand, Rijke, Brakkee, Kas y Adam, 2005d; Morrow, et al., 1997; Paré, 1977).

Una vez que los animales han pasado varios días expuestos al procedimiento ABA, el descenso de la temperatura corporal suele acompañarse de anormalidades en el ritmo circadiano (Watanabe, et al., 1992), siendo el modelo ABA, por lo tanto, útil para comprender la relación entre estos dos aspectos incluso en el trastorno humano²⁵. Las ratas generalmente, son más activas durante el periodo nocturno y duermen durante el periodo de luz (Ibuka, Inouye y Kawamura, 1977); tras la pérdida peso se produce un desajuste en sus ritmos circadianos y sus niveles de actividad se incrementan durante las horas de luz. Este incremento de actividad diurna, cuando supera el 50% de la actividad total, coincide con la aparición de úlceras en la porción glandular del estómago (Watanabe, Hara y Ogawa, 1990). Como veremos posteriormente, una alternativa para explicar este incremento de la carrera y el desajuste del ciclo de sueño/vigilia, es la puesta en marcha de un mecanismo adaptativo para regular la hipotermia, ya que cuando el procedimiento ABA se inicia dentro de la zona termoneutral, que se sitúa en el rango comprendido entre 28 ° C y 32 ° C, el proceso no se desarrolla: los animales no corren tanto, no pierden peso, no sufren alteraciones en sus ciclos de sueño (Gutiérrez, Carrera, Baysary y Boakes, 2006).

²⁵ Aunque no es muy frecuente encontrar referencias clínicas en la literatura que vinculen estos dos aspectos, Crisp en 1985 ya apuntaba la conexión entre la hipotermia, la activación nocturna y el insomnio durante la segunda mitad de la noche (Crisp, 1985), ya que es en torno las 3 - 6 de la mañana, cuando la temperatura corporal alcanza los valores más bajos.

Como hemos señalado más atrás, un elemento crucial en la fijación del criterio actual de retirada de las ratas cuando alcanzan un 25% de pérdida de peso corporal, fue la necesidad de descartar la aparición de úlceras como responsable de la ingesta reducida. Sin embargo, es menos conocida la presencia de úlceras en las pacientes con anorexia nerviosa, habiéndose producido incluso muertes por perforación de la pared del estómago (Kline, 1979). Quizás la primera referencia en la literatura a este tipo de complicación médica se remonta a 1930, en el artículo publicado por John Berkman con el título “*Anorexia nervosa, anorexia inanition, and low basal metabolic rate*”, en el que exponía un caso de un paciente masculino de 19 años, que presentaba esta complicación:

A man, aged nineteen years, first came to the clinic in November, 1920. Eleven month previously he had undergone appendectomy because of an indefinite complaint of pain in the lower right quadrant. The principal complaint at the time of examination at the Clinic was pain in the lower right quadrant and constipation. He stated that four years previously, for a period of two months he had had attacks occurring every week or ten days, lasting from a few moments to an hour, consisting of right abdominal pain, nausea and occasional vomiting followed by vertigo, which lasted about one day. (p. 420)

Un aspecto que entronca con esta complicación, son las continuas quejas de las pacientes con anorexia nerviosa, referidas fundamentalmente al dolor abdominal. Así, como recopilaron Van Deth y Walter Vandereycken, el primer médico del rey de Escocia, Robert Whytt (1765), ya hacía referencia a este aspecto: “*The patient [...] began to loose his appetite, and suffer from a bad digestion...*” (Whytt, 1765, p.303 en Van deth y Vandereycken, 1991, pp.13); y ésta ha sido una queja descrita ininterumpidamente en la literatura: “*dans des douleurs gastriques*” (Lasegue, 1873, p.386), “*to be troubled with indigestión*” (Makenzie, 1888, p.613), “*epigastric distress*” (Farquharson y Hyland, 1938, p.1085), “*organic disease of the stomach (ulcer)*” (Patterson, 1939, p.745), “*indefinite gastrointestinal disturbance*” (Berkman, 1944, p.681), “*varied gastrointestinal symptoms*” (McCullagh y Tupper, 1940, p.817), “*abdominal discomfort*” (Du Bois, 1950, p.113), “*dull or burning pain in the epigastrium*” (Nemiah, 1958, p.256), “*constipation and minor abdominal discomfort*” (Loeb, 1964, p.345), “*abdominal tenderness [...] and complaints of*

unbearable abdominal fullness follow the ingestion of even small amounts of food” (Kidd y Woods, 1966, p.445-446), *“abdominal pain”* (Warren and Vande Wiele, 1973, p.438), *“epigastric discomfort”* (Bemis, 1978, p.594)...etc.

Sin embargo, la mayoría de estas referencias simplemente constituían otro aspecto más del cuadro, tratándolo, bien como un signo o síntoma asociado a la anorexia nerviosa, o como un obstáculo asociado al plan de tratamiento: *“in this way abdominal discomfort, a common cause of complaint in the early stages of treatment....”* (Dally y Sargant, 1960, p.1771).

Con todo, pese a este temprano reconocimiento y pese haber sido un signo característico de las pacientes²⁶, la frecuencia de úlceras estomacales es una característica que suele ser pasada por alto en la literatura relacionada con la anorexia nerviosa, e incluso hay autores que interpretan esta complicación como una divergencia entre los pacientes con anorexia y las ratas expuestas al modelo ABA: *“Unlike AN patients, these animals show starvation induced immunodeficiency [...] and stress ulcers (Paré, 1975), complications (Mustafá, Ward y Treasure, 1997) not observed in AN [Anorexia Nerviosa]”* (Casper, 2006, p.101). Un aspecto un tanto enigmático ya que el 16% de las pacientes que sufren anorexia nerviosa presentan úlceras estomacales (Hall y Beresford, 1983).

2.3. Homología, analogía y utilidad del modelo ABA

Después de este recorrido por estas manifestaciones del modelo animal, análogas a las que se observan en la anorexia nerviosa, es evidente que existen signos en los que fundamentar la analogía del modelo. Sin embargo, el término análogo, no sólo remarca las similitudes entre el modelo animal y el trastorno en humanos, sino que también deja abierta la posibilidad de que

²⁶ Tal y como apuntó el propio Patterson (1939):

In a series of 273 patients observed at Ruthin Castle in whom the main or a prominent symptom was loss of or grossly lessened appetite, it was found that organic disease of the stomach (ulcer, carcinoma, gastritis, or the after stages gastro-enterostomy) which may interfere seriously with the appetite, accounted for one-quarter of the cases. (p. 745)

existan posibles diferencias que generalmente son interpretadas como limitaciones a la hora de utilizar el modelo ABA.

El inconveniente más común asociado al empleo del modelo ABA, extensivo a cualquier modelo de psicopatología, es que los animales carecen de las capacidades propias del ser humano como el lenguaje y la capacidad de simbolización e introspección. Este aspecto representa un gran obstáculo, sobre todo para los clínicos que conciben el desarrollo y el mantenimiento de la anorexia nerviosa a través de un entramado de variables cognitivas, socioculturales y familiares.

A su vez este abordaje multidimensional choca con la incapacidad del modelo para reproducir todos los aspectos que subyacen a la concepción multifacética, como señalaban Coscina y Garfinkel, (1991): *"It is not possible to use animal data to learn about the attitudinal dimensions, in part related to societal ideals, of the excessive concert with body weight and shape, that are so characteristic of human eating disorders"* (p. 238), constituyendo el principal argumento que desacredita el empleo de los modelos animales.

En esta escena, protagonizada por una omnipresente perspectiva en pro de la multidimensionalidad, sería incompatible abordar la anorexia nerviosa con una propuesta como la de Epling y Pierce, ya que de acuerdo con esta concepción, el modelo animal no podría aspirar a ser un modelo útil para abordar la etiología del trastorno²⁷ (Mrosovsky, 1984). Con todo, después de señalar en el capítulo anterior que la investigadora Katherine Halmi comenzaba uno de sus artículos más recientes (2009) afirmando de forma rotunda, que los

²⁷ Sin embargo, Pierce en una entrevista titulada *"What happens when exercise goes too far? Learn about activity anorexia"* no duda en exponer su postura frente a la concepción actual de la anorexia nerviosa, que desacredita al modelo ABA como modelo etiológico. En su parecer la concepción dominante de la anorexia nerviosa, caracterizada por una implacable persecución de la delgadez, se centra principalmente en *"lo que las personas piensan y sienten sobre sí mismos, sobre sus cuerpos..."* (e.g., fobia al peso, imagen corporal distorsionada). En cambio, el núcleo de su planteamiento, basado en las semejanzas entre el modelo animal y la característica hiperactividad del 75% de los casos diagnosticados de anorexia nerviosa (Epling et al., 1983), se centra exclusivamente en *"lo que la gente hace"*: ejercitarse y alimentarse... La explicación de Pierce, responde principalmente a la diferencia entre signos y síntomas; y su posicionamiento a favor de los signos observables de la anorexia nerviosa, en detrimento de los aspectos subjetivos (inferidos por el observador), se entronca en su concepción "conductista" de la conducta en general, lo que obviamente refuerza la analogía entre el trastorno en humanos y el modelo ABA.

planteamientos etiológicos actuales no habían supuesto ningún avance en el panorama de tratamientos, detenernos en cuestionar la validez del modelo para entender la etiología del trastorno, sólo contribuiría a alejarnos más del progreso en el tratamiento.

Otra reticencia con respecto al modelo ABA tiene que ver con la evidencia de que la ingesta reducida, en las ratas sometidas al procedimiento ABA, se debe al programa de alimentación restringida (1,5 h/día); mientras que las pacientes rodeadas de comida, “voluntariamente” se privan de tomarla. En este sentido, la ingesta reducida de las ratas no tiene parangón con el supuesto autocontrol y bienestar de las pacientes al restringir su ingesta (Casper y Davis, 1977), a pesar de la sensación de hambre que experimentan, apartándolas activamente de cualquier sentimiento de plenitud o de saciedad (Robinson y McHugh, 1995). Desde esta perspectiva, la sensación de hambre que se produce en los estadios iniciales de la anorexia nerviosa, no sería equiparable a la pérdida de apetito que muestran las ratas sometidas al procedimiento ABA, que pierden peso como una mera consecuencia de la inhibición en el apetito causada por la interacción con el ejercicio²⁸ (Treasure y Owen, 1997). Consecuentemente, los clínicos que consideran que esta restricción voluntaria de comida en el trastorno humano, obedece a la fuerza de voluntad de la paciente y a su capacidad de control, objetan que en el laboratorio, es el experimentador y no el propio animal quien inicia la auto-inanición. Sin embargo, aun siendo cierta esta consideración, en ella existe un aspecto paradójico, ya que patente en la formulación multidimensional también figura la presión social y el reconocimiento de que los medios de comunicación son los mayores agentes promotores de las dietas y de la cultura de la delgadez. Así pues, hasta cierto punto la “voluntariedad” de la paciente suele quedar enmascarada por ese control social externo, sea éste internalizado, o no. Además, a este respecto, Epling y Pierce (1991) recalcan la enorme capacidad de recibir reforzamientos en las etapas iniciales cuando la persona, habitualmente una adolescente, logra perder algo de peso.

²⁸ Esta pérdida de apetito, sin embargo no tiene lugar hasta que la actividad se hace excesiva, pudiendo representar una debilidad el hecho de que las ratas al inicio del procedimiento tiendan a incrementar su ingesta.

La voluntariedad atribuida a todo el proceso, desde la fase inicial hasta la fase más avanzada, es otro de los aspectos más cuestionados, tanto por la baja tasa de remisión espontánea del trastorno, como por el fracaso que caracteriza la mayoría de los intentos de psicoterapia; ya que ambos aspectos parecen apuntar que la paciente se encuentra inmersa en un proceso que supera su capacidad de control y decisión. Sin embargo, una buena parte de los clínicos parecen no apreciar estos aspectos, sobrevalorando la intencionalidad de las pacientes para perder peso, mediante ejercicio físico o dietas, y pasando por alto el hecho que la asociación de la dieta con la anorexia nerviosa está sobredimensionada como elemento causal precipitante²⁹ (Crisp, 1965; Mayer, 1963 y Nemiah, 1958), existiendo otros elementos precipitantes que no están relacionados con el deseo de adelgazar (Loeb, 1964).

Así pues, esta matización, que separa la voluntariedad de las pacientes de la restricción de ingesta, unida a una perspectiva bioconductual de la hiperactividad que libera a las pacientes de cualquier intencionalidad o culpa (Epling et al., 1983), refuerza la analogía existente entre el modelo animal y el trastorno en humanos, ofreciéndonos una ventana experimental para encontrar las claves que nos permitan mejorar el tratamiento de las pacientes con anorexia nerviosa (Hillebrand, Koeners, Rijke, Kas y Adan, 2005c).

Además, como señala Kenneth Shapiro en su artículo: *“Animal Model Research: The Apples and Oranges Quandary”*, las diferencias entre el modelo y el trastorno en humanos, en sí mismas, no representan una limitación si la interpretamos como una posibilidad diferente, desde la que generar nuevas hipótesis:

²⁹ Ciertamente, sólo una tercera parte de las pacientes que sufren anorexia nerviosa, la desencadenan tras realizar una dieta voluntaria, y en ocasiones, la ausencia o presencia de esta dieta voluntaria depende de la inteligencia y habilidad del paciente para racionalizar y discutir sus síntomas (Kay y Leigh, 1954). Ziegler y Sours (1968), también señalan que, de los 115 que componían su muestra, la mitad no pudieron explicar el motivo de su dieta; y de aquellos que iniciaron su dieta con el objetivo de perder unos cuantos kilos, el 16% perdieron el control sobre ella.

Differences between the two species are likely to be informative to an understanding and treatment of the disease. The study of differences as well as similarities generates hypotheses. Further, even a similarity disconfirmed, and thus invalidated, can be informative or suggest treatment possibilities. (p. 408)

3. Anorexia Basada en la Actividad y la hiperactividad en la Anorexia Nerviosa

La propia denominación del modelo Anorexia Basada en la Actividad (ABA) indica que el paralelismo con la anorexia nerviosa, que cursa con hiperactividad y ejercicio físico excesivo (Holtkamp, Hebebrand y Herpertz-Dahlmann, 2004), es uno de los puntos más sólidos en los que se fundamenta la analogía y la utilidad del modelo (Shroff, Reba, Thornton, Tozzi, Klump, Berrettini, Brandt, Crawford, Crow, Fichter, Goldman, Halmi, Johnson, Kaplan, Keel, LaVia, Mitchell, Rotondo, Strober, Treasure, Woodside, Kaye y Bulik, 2006). De hecho, la actividad de naturaleza voluntaria que muestran las ratas en el laboratorio (pues no están obligadas a correr en la rueda), es un hecho indispensable para el desarrollo de ABA, ya que esta actividad no sólo impulsa la pérdida de peso y la inhibición en la ingesta, sino que además determina el resto de las características análogas del modelo. No hay duda de que el efecto de la actividad en el modelo es clave, ya que los animales con alimentación *ad libitum* y libre acceso a la rueda de actividad, también reducen significativamente su ingesta un 25% y pierden peso³⁰ como resultado del progresivo incremento de su carrera (Alonso y Eikelboom, 2003), pasando en varias semanas de correr 1 km diario a 5 ó 6 Kms (Eikelboom y Mills, 1988). Si bien, esta reducción de la ingesta es pasajera, y el peso de los machos *ad libitum* con acceso a rueda de actividad, nunca llega a equipararse al de los animales sedentarios. Para las hembras, en cambio, tanto la ingesta como el peso se sitúan al nivel de las sedentarias a pesar de su elevada actividad, lo que muestra una ventaja evolutiva (Carrera, et al., en prensa).

³⁰ Esta similitud con las consecuencias básicas que suceden al procedimiento ABA, ha llevado recientemente a Adams, Parfeniuk y Eikelboom (2009) a plantear esta relación, entre el nivel de carrera y la supresión en la ingesta, como un posible modelo de anorexia nerviosa, ya que en este caso tales consecuencias están motivadas intrínsecamente por el propio animal y no por el experimentador (como sucede en el modelo ABA).

No obstante, por lo que respecta a los animales sometidos a restricción de comida, existen diferentes hipótesis que intentan explicar por qué las ratas, en ausencia de alimentos corren espontáneamente en la rueda de actividad, sin embargo, como detallaremos en el siguiente apartado, no existe una teoría hegemónica que explique porqué este comportamiento sucede en cada uno de los laboratorios que trabajan con el modelo ABA.

3.1. Robert Boakes: “*What makes a rat run?*” (Boakes, 2007, p.253)

A las ratas les gusta correr en la rueda, y si pueden lo hacen (Sherwin, 1998). Sin embargo, desde que Steward (1898) usó por primera vez la rueda de actividad para examinar que efecto tenían sobre ella la dieta, el alcohol y la presión barométrica, ha sido un reto explicar que hace correr a las ratas en las ruedas, como señala el Prof. Boakes, “*especially when deprived of food*” (Boakes, 2007, p. 253).

Para algunos autores, esta actividad de las ratas en las ruedas sería un caso especial de reforzamiento inducido por el propio programa de alimentación (Levitsky y Collier, 1968); mientras que otros plantean la excesiva actividad como una conducta adjuntiva, es decir, como un comportamiento que no parece tener asociada ninguna ventaja conductual ni fisiológica³¹ (Gutiérrez y Pellón, 2002).

Sin embargo, una de las interpretaciones de la actividad que goza de mayor atención en la literatura, es aquella que vincula el ejercicio físico con los circuitos límbicos implicados en el reforzamiento (Tobías y Stefano, 2004), concretamente el sistema dopaminérgico y el opioide, que son los sistemas implicados en señalar el valor gratificante de la actividad.

³¹ Estos planteamientos han sido revisados en profundidad y abordados experimentalmente en nuestro país por el Profesor Ricardo Pellón (Gutiérrez y Pellón, 2002).

El circuito dopaminérgico mesolímbico ejerce un control importante sobre la motivación y la actividad motora (Wise, 2004), debido a las aferencias límbicas sobre el núcleo accumbens (véase Figura 3), un núcleo con un papel importante en la recompensa y la adicción, que envía proyecciones extrapiramidales al sistema locomotor, facilitando el paso de la motivación a la acción (Koob, 1992).

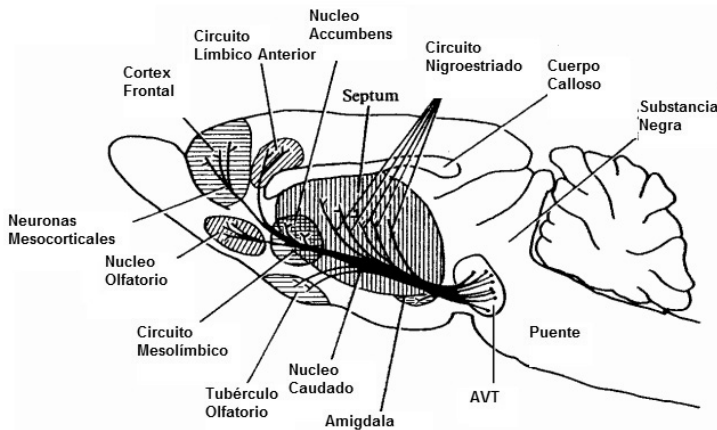


Figura 3. Corte sagital del cerebro de la rata mostrando el sistema dopaminérgico mesolímbico-cortical. Las neuronas dopaminérgicas localizadas en el núcleo ATV proyectan sus fibras a estructuras del prosencéfalo tal como el núcleo accumbens, la corteza prefrontal, la amígdala y el hipotálamo. Modificado de Ungerstedt, 1974.

Teniendo en cuenta que el modelo ABA es extremadamente estresante para los animales (Lambert, 1993), el estrés de la exposición al entorno ABA produce la activación de muchos sistemas diferentes en el cuerpo, así como la inhibición de otros. Una de las principales respuestas que produce el estrés es la respuesta inmediata del sistema nervioso simpático (SNS), liberando adrenalina (en las glándulas suprarrenales) y noradrenalina (en el resto del cuerpo); paralelamente a esto, se produce la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, que tiene como consecuencia final la liberación de una hormona, el cortisol, que es un glucocorticoide.

El cortisol produce múltiples efectos, sobre todo movilizandando energía de diversos tejidos para facilitar la respuesta del organismo a la situación de estrés. Pero el cortisol también llega al cerebro y presenta ciertos efectos en él, que son más duraderos que los efectos de la adrenalina o la noradrenalina, y a niveles elevados puede llegar a inducir euforia y gratificación. El estrés crónico que supondría para un animal enfrentarse día tras día al entorno ABA, produciría una hipersecreción de los glucocorticoides que modulan el estatus funcional de las neuronas dopaminérgicas, bien por medio de la modulación de su tasa de disparo, o por medio de la estimulación de la síntesis de dopamina en el Área Tegmental Ventral (ATV), que aparte de generar un estado muy placentero al animal, pondría en marcha el circuito dopaminérgico de reforzamiento. Este circuito (con una alta propensión a condicionarse), dota al ejercicio físico y a la ingesta restringida de un elevado valor reforzante³² (Bergh y Sodersten, 1996).

Aunque la dopamina sea importante para muchos aspectos de este comportamiento motivado, otro de los sistemas neuroquímicos es el sistema opioide. El ejercicio que realizan las ratas privadas de alimento, aumenta la liberación de β -endorfinas (Epling y Pierce, 1991), que son unas sustancias endógenas que elevan el umbral del dolor en situaciones estresantes, retrasando la llegada de la fatiga, suprimiendo la alimentación y potenciando la actividad en la rueda (Aravich, Rieg, Lauterio y Doerries, 1993; Schebendach, Klein, Foltin, Devlin y Walsh, 2007). La liberación de β -endorfinas puede activar directamente las células dopaminérgicas del ATV, mediante el bloqueo de receptores GABA en las proyecciones del ATV en el núcleo accumbens, y así se activan las vías nigroestriatal y mesolímbica y aumenta la liberación de dopamina en el caudado putamen y núcleo accumbens³³.

³² Estos autores apuntan el poder reforzante que tenían la pérdida de peso y la restricción de la comida para las pacientes con AN, señalando que el ejercicio físico es "apparent enjoyment", "pleasurable", "rewarding", (Feighner et al., 1972) o como ya el propio Gull apuntaba que "exercise was agreeable for the patient" (Gull, 1874).

³³ Además, los niveles bajos de leptina que se producen en los animales a medida que se produce la pérdida de peso, acaban aumentando la actividad del sistema dopaminérgico ya que los receptores de leptina en las neuronas dopaminérgicas en el ATV inhiben la actividad de estas neuronas (Hommel, Trinko, Sears, Georgescu, Liu, Gao, Thurmon, Marinelli, y DiLeone, 2006).

Esta capacidad reforzadora del ejercicio físico (Belke, 1996, Epling y Pierce, 1991; Pierce et al., 1986; Sherwin, 1998), es plausible incluso con otra interpretación de tipo teleológico según la cual el incremento de actividad sería un comportamiento motivado por la búsqueda de alimento, de ahí su interpretación como conducta de forrajeo. Epling y Pierce plantean además que este comportamiento sería un recurso presente únicamente en parte de los animales de una especie dada. Así, ante una situación de escasez esta conducta de exploración migratoria³⁴ (Baker, 1978) y de forrajeo se activaría en algunos miembros, lo que aseguraría una mejor redistribución del alimento para los animales que permanecieran en el nicho original, favoreciendo ese recurso adaptativo la supervivencia de la especie. (Epling y Pierce, 1991, 1996; Fessler, 2002). Desde esta perspectiva incluso algún autor (Arun, 2008) cree ver en algunos rasgos de las pacientes con anorexia nerviosa, tales como el pensamiento rígido, el bajo peso, la hiperactividad y el lanugo, un fenotipo que expresa la preservación evolutiva de características ancestrales.

3.2. La hiperactividad: la Cenicienta de los signos y síntomas de la Anorexia Nerviosa

Esta ausencia de una explicación cabal de los mecanismos que subyacen al aumento paradójico de la actividad en los animales también se encuentra, con respecto a este mismo rasgo, en el trastorno humano. Según algunas estimaciones, hasta un 80% de las pacientes con anorexia nerviosa mantienen un compromiso activo con el ejercicio físico (Davis, Katzman, Kaptein, Kirsh, Brewer, Kalmbach, Olmsted, Woodside y Kaplan, 1997), siendo la resistencia que oponen las pacientes a guardar reposo, uno de los mayores obstáculos asociados al tratamiento ambulatorio y hospitalario (Meyer, Taranis, y Touyz, 2008). Un dato llamativo, teniendo en cuenta que esta dificultad ya fue identificada por Sir William Gull cuando afirmaba que durante el tratamiento: *“The restless activity referred to is also be controlled, but this is often difficult”* (Gull, 1874, p. 25).

³⁴ Esta conducta de exploración migratoria, suele suceder cuando los animales desean alcanzar inmediatamente una meta que es imperceptible, por lo que necesitan buscar y valorar los recursos disponibles (Mather, 1981).

La permanencia de esta dificultad terapéutica desde William Gull hasta nuestros días, nos aporta otro rasgo característico en la conceptualización de la anorexia nerviosa a través de la historia, y aunque los clínicos han reflejado ininterrumpidamente la presencia de alguna forma de hiperactividad en sus descripciones (Alexander, 1939; Berkman, 1948; Blinder, et al., 1970; Blitzer, Rollins y Blackwell, 1961; Bond, 1949; Bruch, 1973; Du Bois, 1949; Janet, 1903, 1929; Kaufman y Heiman, 1964; Kay y Leigh, 1954; Halmi, 1974; Lasègue, 1873; Mayer, 1963; Meyer y Weinroth, 1957; Morton, 1689; Nemiah, 1958; Palmer y Jones, 1939; Pardee, 1941; Ryle, 1936, 1939; Wallet, 1892; Ziegler y Sours, 1968), este rasgo no llegó a merecer el estatus de característica esencialmente relevante y con una más que probable significación clínica hasta la publicación de Kron et al. (1978). Es difícil de entender que la hiperactividad durante años haya estado postergada a un segundo plano, de ahí la calificación de “Cenicienta” entre los síntomas de la anorexia nerviosa (Gutiérrez y Vázquez, 2000), ya que no sólo cuenta con este reconocimiento trans-teórico y trans-temporal, sino que además, en la segunda mitad del siglo XX, la hiperactividad de las pacientes fue considerada como un criterio de exclusión clave de otros trastornos endocrinos que cursaban con emancipación como la enfermedad de Simmond (Escamilla, 1944; McCullagh y Tupper, 1940).

No obstante, parece que en los últimos 20 años, la hiperactividad ha abandonado este rango secundario, debido a su consideración desde una perspectiva psicobiológica (Kolhl, Foulon y Guelfi, 2004) que concibe la hiperactividad como una manifestación con significación clínica propia y no como una simple estrategia para perder peso (Casper, 1998, 2006; Davis, 1997; Davis, Blackmore, Katzman y Fox, 2005; Kohl et al., 2004; Touyz, Beumont y Hook, 1987). Este giro en el reconocimiento de la hiperactividad, como una característica relevante, también viene acompañada por el intento de aplicar las mismas interpretaciones que este fenómeno ha recibido en el ámbito de la experimentación ABA, que pasamos a revisar a continuación.

3.2.1. Prevención y reversión de la actividad en el modelo ABA

Desde el primer estudio en el que las ratas fueron tratadas con Clorpromazina por Routtenberg y Kuznesof (1967, Exp.5)³⁵ existen una gran cantidad de agentes farmacológicos, agonistas y antagonistas de receptores básicos en sistemas dopaminérgicos, serotoninérgicos, melanocortinérgicos y opioides (por señalar los más estudiados), que han sido eficaces en la prevención de la actividad excesiva en las ratas sometidas al procedimiento ABA (Hillebrand, 2005; Gutiérrez, Cerrato, Carrera y Vázquez, 2008). Sin embargo, ninguno de esos principios activos se ha revelado útil en el tratamiento de la anorexia nerviosa³⁶.

Además, la práctica totalidad de los estudios en los que se han ensayado agentes farmacológicos, se han centrado en la prevención del desarrollo de ABA, ya que se administran a los animales desde el Día 0, o incluso se pretrata a los animales antes de enfrentarse con el procedimiento. Esta estrategia sería adecuada si el modelo animal fuera un modelo etiológico del trastorno, cosa que no es, como ya hemos argumentado.

Sin embargo, una estrategia diferente, casi inexplorada en la investigación con ABA, sería la que se centra en la reversión de la pérdida de peso, la actividad o la ingesta, una vez que estas variables hayan adquirido valores críticos (por exceso en el caso de la actividad, o por defecto en el de la ingesta). Una estrategia de reversión de ABA entroncaría más directamente con el papel que creemos más adecuado para el modelo ABA: el desarrollo de tratamientos eficaces para aspectos tales como la hiperactividad y la ingesta restringida en pacientes.

³⁵ Recientemente Adams et al., 2009 incluso han reportado excelentes resultados con este fármaco en lo que los autores denominan "Wheel induced feeding supresión", una medida aguda de la supresión del apetito en las primeras 24 horas de acceso a la rueda en ratas sin restricción de alimento.

³⁶ Como ya señalamos en el primer capítulo, casi una década antes de que la clorpromazina fuera ensaya en animales ya en el Department of Psychological Medicine del St. Thomas's Hospital de Londres se ensayó este fármaco con pacientes con AN (Dally et al., 1958), cuyo único resultado fueron graves efectos extrapiramidales hasta en el 50% de los casos (Dally y Sargent, 1966).

Con respecto a esto, sólo existe en la literatura un tratamiento que ha sido parcialmente eficaz para revertir la actividad excesiva, pero con consecuencias negativas para la ingesta y el peso; la leptina³⁷. Además, el modelo utilizado fundamentalmente por colegas alemanes (Broocks, et al., 1990, 1991; Pirke, Broocks, Wilckens, Marquard, y Schweiger, 1993) presentaba variantes importantes con ABA, ya que los investigadores por medio de un ajuste diario de la cantidad de comida disponible, conseguían estabilizar el peso de los animales mientras mantenían un ritmo importante de actividad en la rueda, de ahí que el modelo empleado se denomine “Hiperactividad inducida por la semi-inanición”, o SIH (siglas de semi-starvation-induced hyperactivity). Utilizando esta variante SIH, Exner, Hebebrand, Remschmidt, Wewetzer, Ziegler, Herpertz, Schweiger, Blum, Preibisch, Heldmaier, Klingenspor (2000) demostraron que incrementar los niveles de leptina, reducía la hiperactividad aunque esto no se tradujese en una mayor ganancia de peso. Una investigación posterior utilizando el modelo ABA, evidenció que aunque la administración diaria de leptina inhibía el desarrollo de la actividad en la rueda, empeoraba aun más la ingesta de los animales, que unido al aumento de la termogénesis, provocaba que éstos, lejos de recuperarse, tuvieran que ser retirados por la acusada pérdida de peso (Hillebrand et al., 2005c)³⁸, vinculándose esta hiperactividad con la baja secreción de leptina asociada a la restricción calórica y a la pérdida de peso (De Rijke, Hillebrand, Verhagen, Roeling y Adam, 2005; Kas, Van Dijk, Scheurink, y Adan, 2003). Aunque la hipótesis de la hipoleptinemia como la base de la hiperactividad, tan característica de las pacientes y de los animales de laboratorio, sigue recibiendo una cierta atención (Hebebrand, Muller, Holtkamp, Herpertz-Dahlmann, 2007), el valor terapéutico de la administración de leptina a pacientes es limitado, teniendo en cuenta que la normalización de los hábitos alimentarios y la restauración del peso corporal es la meta de

³⁷ La leptina es una hormona producida por los adipocitos del tejido adiposo; fue descubierta en 1994 en el ratón (Zhang, Proenca, Maffei, Barone, Leopold y Friedman, 1994); actúa como indicador de las reservas de grasa, siendo una potente señal periférica en la estimulación de péptidos anorexigénicos y la supresión de péptidos orexigénicos a nivel hipotálmico, lo que provoca el aumento del gasto energético aumentando entre otros sistemas la regulación del metabolismo basal y la temperatura corporal (Marx, 2003; Zigman y Elmquist, 2003).

³⁸ Ya el título del quinto capítulo de la Tesis Doctoral de Hillebrand, en el que la autora incluye estos resultados, anuncia este impacto negativo: “Leptin treatment in activity- based anorexia: good news and bad news”.

cualquier plan de tratamiento. Esta limitación queda reflejada en la discusión de uno de los últimos artículos sobre el tema: “...*leptin treatment (if applicable) should certainly not be used during the initial phases of treatment, but (if so) only once body weight and food intake have been normalized*” (Hillebrand, Kas, van Elburg, Hoek y Adan, 2008, p. 693).

3.3. La temperatura ambiental: un factor pasado por alto

La importancia crucial de la temperatura ambiental en el desempeño de los animales expuestos simultáneamente a privación de comida y acceso a una rueda de actividad, fue advertida por primera vez en un experimento en el que accidentalmente se produjo un cambio en la temperatura ambiental en el laboratorio de la investigadora Kelly Lambert en el Department of Psychology del Randolph-Macon College de Ashland (Virginia). La Dra. Lambert estaba interesada en el desarrollo de úlceras en los animales expuestos al procedimiento denominado “Estrés por Actividad” (AS), fenómeno que como ya hemos señalado se produce cuando la pérdida de peso rebasa el 25% del peso corporal (Doerries et al., 1991). El mal funcionamiento del termostato elevó la temperatura del laboratorio, de los 22° C previstos a un tórido ambiente de 26,5° C, como resultado las ratas dejaron de mostrar el típico aumento de actividad en las ruedas cuando se les sometió a restricción de alimentos (Lambert, 1993).

Esta ausencia de incremento de actividad motivó un experimento planeado, cuyos resultados fueron presentados en una reunión de la Southern Society for Philosophy and Psychology en Louisville, KY, en Abril de 1990, (Lambert y Hanrahan, 1990); sin embargo nunca llegaron a ser publicados. En ese experimento no publicado, 44 ratas, Long-Evans macho de 47 días de edad, fueron emparejadas por peso y asignadas al azar a uno de cuatro grupos en un diseño factorial 2 x 2. El primer factor era el acceso o no a la rueda de actividad dando origen a dos grupos: Activo y Sedentario; y el segundo factor era la temperatura ambiental (25° C o 19,4° C). Los grupos activos estaban sometidos a un programa de alimentación restringida de 1 h/día; en cambio la

cantidad de comida para el grupo Sedentario se correspondía con la consumida por los animales Activos a los que se hallaban uncidos.

Los resultados de ese estudio confirmaron los del estudio "accidental", las ratas a temperatura estándar (19,5° C) se diferenciaron de forma significativa, tanto en la actividad como en el número de úlceras. Además, la tasa de supervivencia entre los grupos produjo diferencias estadísticamente significativas, mientras los animales del grupo Activo a 19,5° C empezaron a morir en el Día 3 del procedimiento, habiendo muerto todos al sexto día, los animales Activos, expuestos a 25° C, comenzaron a morir al quinto día y tres animales sobrevivieron el período de 14 días del estudio.

Una evidencia experimental más directa del efecto beneficioso del calor en la supervivencia de las ratas proviene de otro laboratorio, también centrado en el estudio de la producción de úlceras (Morrow et al., 1997). En ese estudio, 60 ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley fueron expuestas al procedimiento estándar de estrés por actividad para la producción de úlceras (alimentación restringida de 1h /día y libre acceso de la rueda de actividad). Después de un período de aclimatación a la rueda bajo alimentación *ad libitum*, la temperatura ambiental se fijó en 21° C \pm 5° C. Cuatro grupos de ratas recibieron una manipulación diferente cuando alcanzaron un criterio predefinido de muerte inminente. Veinticuatro horas antes de desarrollar una aguda hipotermia, previa a la muerte del animal, varios grupos fueron dejados o bien en la misma situación (n = 18), calentados con una lámpara (n = 9), privados del acceso a la rueda de actividad (n = 13), o sacrificados (n = 8). Un quinto grupo de control de ratas sedentarias (que nunca tuvieron acceso a la rueda de actividad), se mantuvo en el mismo programa de alimentación restringida (1 h/día).

El 60% del grupo calentado con una lámpara de calor (que pasó de 21° C a 37° C) sobrevivió a las condiciones experimentales una semana más en este ambiente más caldeado, con una supervivencia media (12,2 días) mayor incluso que la del quinto grupo de control (ratas sedentarias) mencionado más atrás, que nunca tuvo acceso a la rueda de actividad (11,1 días). La Media de

supervivencia del grupo calentado, dobló la supervivencia tanto de los animales expuestos al mismo procedimiento experimental a una temperatura de $21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ (Grupo 1, Media = 4,8 días), como la del grupo cuyas ruedas fueron bloqueadas (Grupo 2, Media = 5,3 días).

Sin embargo, como ya hemos señalado, el hecho de que tanto el trabajo de Lambert (1993), como el de Morrow et al. (1997) fueran líneas experimentales encuadradas dentro de la investigación de úlceras, hizo que estos resultados no tuvieran repercusión entre los investigadores que, utilizando exactamente el mismo procedimiento experimental (restricción de comida y rueda de actividad), centraban su interés en la Anorexia Basada en la Actividad. Así, en un nuevo ejemplo de los inconvenientes de la super-especialización que conlleva la excesiva compartimentación de la ciencia, observaciones casuales y resultados experimentales capaces de generar nuevas líneas de investigación fueron pasadas por alto.

Esta situación anómala se puso de manifiesto en un artículo publicado por Gutiérrez et al., en 2002, titulado: *“Activity-Based Anorexia: Ambient temperature has been a neglected factor”*. En ese artículo se ofrecía una nueva interpretación de la hiperactividad de las ratas ABA y su posible implicación para el tratamiento de la anorexia nerviosa. Para ello, en el artículo se realiza una revisión exhaustiva del papel de la temperatura ambiental en la bibliografía sobre ABA y AS, revelando que el control de la temperatura ambiental había sido objeto de un control deficiente en la mayoría de los estudios publicados y que además en algunos estudios, ni tan siquiera se informaba de esta variable. En el trabajo de Morrow et al. (1997) (revisado en profundidad por Gutiérrez et al., 2002), sin mencionar el trabajo anterior de Lambert, se llega a la conclusión de que la mayor supervivencia del grupo de animales calentados está en relación con la formación de las úlceras, y en ningún momento se refieren al descenso de la actividad ni a la facilitación de la ingesta. Así, los autores declaran con respecto a los animales calentados: *“warming animals with a heat lamp 24 h prior to predicted mortality significantly increased the likelihood and length of survival and attenuated gastric erosion formation”* (p. 823).

Aunque Morrow y sus colegas (1997) se refieren con frecuencia a los efectos de mantener artificialmente la temperatura corporal de ratas moribundas, solamente hacen un breve comentario acerca de la atenuación de la actividad en la rueda de las ratas calentadas. De hecho, estos autores no atribuyeron ninguna importancia al hecho que las ratas calentadas corrieran menos que las ratas hipotérmicas, calificándolo como un hecho que se observaba fundamentalmente durante el período nocturno: *“warmed rats ran less than rats that become hypothermic during the nocturnal, but not the diurnal period of the day of sacrifice”* (p. 822). Es más, a pesar de la menor actividad de las ratas, los autores no le atribuyen ninguna importancia a la mayor supervivencia y menor incidencia de úlceras en las ratas calentadas ya que según los autores, estos aspectos: *“could not be attributed to the reduction in wheel running during the warming period”* (p. 823).

Además a lo largo de su artículo, Morrow y sus colegas, tampoco establecen ningún vínculo ni un posible significado de sus resultados para la línea de investigación de ABA. De hecho, ni siquiera utilizan esa acepción, ya que la única referencia a un *“animal model of exercise-induced anorexia nervosa”* aparece en el último párrafo de la discusión (Morrow et al., 1997, p. 825) para referirse al trabajo de Epling et al. (1983). Y como muestra de ceguera ante las implicaciones de sus resultados para el modelo ABA, y por extensión a la anorexia nerviosa, la única mención a la anorexia nerviosa se desmarca totalmente de cualquier referencia al tratamiento, ya que las implicaciones de su estudio se sitúan en términos del posible papel que el estrés puede tener en el desencadenamiento y mantenimiento del trastorno en los humanos:

A growing number of clinical studies have suggested that exposure to minor to major stressful events (i.e., going away to college, physical training, childhood sexual abuse) can precede the initial onset of anorexia nervosa, contribute to the progression of the disease, and impact the course of recovery over time (Morrow et al., 1997, p. 824).

La ignorancia que muestran Morrow et al. (1997) por las repercusiones que se desprenden del comportamiento del grupo de ratas calentadas, permite entender como fue posible que durante más de treinta años, desde los trabajos pioneros de Routtenberg y Kuznesof (1967), la investigación con el modelo animal ABA ignorase el papel crucial de la temperatura ambiental, desoyendo la clásica recomendación de Brobeck (1960) acerca de la atención que debe prestarse a este parámetro cuando se monitoriza la ingesta: *“one cannot study food intake without specifying or controlling the conditions of temperature regulation”* (p. 448). Sin embargo, como se detalla minuciosamente en el artículo *“Activity-based anorexia: Ambient temperature has been a neglected factor”* (Gutiérrez et al., 2002), la variabilidad de la temperatura ambiental entre los diferentes estudios, no había sido reconocida como un factor potencialmente importante, y en más ocasiones de las que hubiese sido deseable el control de la temperatura ambiental en muchos estudios había sido muy deficiente, hasta el punto de no llegar a especificar este parámetro en algunos estudios, como si su contribución se hubiera demostrado menor, cosa que ni se había comprobado y, peor aún, resultó ser una variable de primera categoría en cuanto a su papel modulador en la investigación con ABA.

3.4. La interpretación termoregulatoria de la actividad en el modelo ABA

A pesar de que en el subapartado 3.2.1. *Prevención y reversión de la actividad en el modelo ABA*, hacíamos un esbozo de la trayectoria de las diferentes líneas de investigación que trataron de prevenir la hiperactividad con diferentes agentes farmacológicos en dicho modelo; concluíamos señalando que ninguna de ellas había sido eficaz a la hora de plantear una solución que permitiese a los animales recuperarse, una vez que habían desarrollado las secuelas características del entorno ABA. El propio encabezamiento del tercer apartado: *“La hiperactividad: la Cenicienta de los signos y síntomas de la anorexia nerviosa”*, califica de *“Cenicienta”* a la hiperactividad presente en el cuadro clínico de la anorexia nerviosa, debido a la ausencia de consideración de este rasgo como una característica relevante del trastorno. Sin embargo, como

hemos planteado, ambas características, en los animales expuestos a ABA y en el trastorno humano, pueden ser consideradas semejantes no sólo en cuanto a su origen, sino también en las consecuencias que puede acarrear sobre la ingesta y la pérdida de peso.

En este capítulo queremos encuadrar la base experimental que existe para intentar la reversión de ABA, lo cual pasa por una reducción en la actividad en la rueda, con la consiguiente liberación de la inhibición de la actividad sobre la ingesta y la recuperación de peso consecuente. De conseguirse esta reversión en la actividad en la rueda, su pariente en el trastorno humano – “La Cenicienta” – podría verse beneficiada de esta reversión.

Desde una perspectiva translacional, el fundamento de este intento de reversión de ABA fue planteado en el artículo “*Activity-based anorexia: Ambient temperature has been a neglected factor*” (Gutiérrez et al., 2002) en relación con la teoría de la termorregulación de Brobeck (1945, 1948), que propone que la temperatura ambiental es un elemento clave para estudiar la regulación del balance energético. De acuerdo con esa teoría, Gutiérrez et al. (2002) presentaron una interpretación de la actividad de las ratas en la rueda como una estrategia para mantener la temperatura corporal, que había sido mencionada por Paré (1977) en el contexto de investigación de úlceras.

Es conocido que la restricción de actividad en ratas privadas de alimento provoca una disminución de la temperatura rectal y cutánea (Stevenson y Rixon, 1957), y existe una relación inversa entre el índice de actividad y la temperatura ambiente del laboratorio dónde se alojan las ratas con acceso restringido a la comida, ya que a medida que disminuye la temperatura en un rango de 5° C a 33° C, aumenta la actividad en la rueda (Stevenson y Rixon, 1957).



Figura 4. Diagrama que muestra el círculo vicioso que se produce entre el efecto termorregulatorio de actividad en la rueda y la hipotermia resultante de la exposición al procedimiento ABA.

Según el planteamiento de Gutiérrez et al. (2002), la hiperactividad se convertiría en un mecanismo de sostén de la temperatura corporal comprometida por la restricción de comida a la que se enfrenta el animal cuando es expuesto al modelo ABA. Sin embargo, esta solución aparta al animal cada vez más de una situación de equilibrio debido al ciclo de retroalimentación positiva que se establece, donde la actividad acaba potenciando el defecto que pretende remediar, la hipotermia, conduciendo a la rata a un fatal desenlace. No obstante este planteamiento no pretende explicar la actividad de la rata desde el primer día, ya que existen evidencias de que los animales incluso, muestran un cierto nivel de actividad cuando la temperatura ambiental se encuentra dentro del rango termoneutral³⁹. Así por ejemplo, la actividad en la rueda asociada a la restricción de la ingesta ocurre cuando se previene la hipotermia, bien elevando la temperatura a 31° C (Campbell y Lynch, 1967), o permitiéndole a la rata acceder a una cámara calentada a 35° C (Campbell y Lynch, 1968). O como Morrow y sus colegas (1997) sugieren, ya en el propio título de su artículo *“Body temperature and wheel running*

³⁹ El rango de temperatura de la zona termoneutral, dónde el gasto metabólico de la ratas es mínimo, suele oscilar entre 27° C y 30° C (Gordon, 1990).

predict survival times in rats exposed to Activity-Stress", la temperatura corporal de las ratas del primer día del procedimiento es un posible factor de predisposición⁴⁰, ya que aquellas ratas con una gran variabilidad en la temperatura corporal durante el primer día de restricción de ingesta, tenían menos probabilidades de sobrevivir al procedimiento (Morrow et al., 1997).

Con todo, la cara más imprecisa de esta evidencia, se acompaña de otras que sugieren, que la termorregulación no puede ser el único factor que contribuye a este incremento de actividad que desarrollan las ratas al ser expuestas a la rueda. Uno de los argumentos que abre la posibilidad de que existan otros factores explicativos para esta excesiva actividad en la rueda, es que este aumento ocurre antes de que sea posible detectar una caída en la temperatura corporal de las ratas (Morrow et al., 1997).

Campbell y Lynch (1967) encontraron que la actividad se incrementaba en ratas privadas de alimento que evolucionaban a 31° C; la mayoría de los días la cantidad de carrera no superaba las 2000 vueltas en la rueda. Además si estos resultados los comparamos con los de un estudio anterior llevado a cabo a una temperatura estándar de 20° C por estos mismos investigadores, con ratas del mismo peso, sexo y raza, comprobaremos que la cantidad de actividad que desarrollaron las ratas a temperatura estándar triplicó la realizada por las ratas calentadas (Campbell y Lynch, 1968).

Aparte de este experimento de Campbell y Lynch realizado a 31° C (1968), este escaso nivel de actividad también ha sido informado en otros experimentos en los que la temperatura estaba situada en un rango de 24° C a 28° C. Uno de los experimentos es el de Bolles y Duncan (1969); así, aunque el objetivo de estos investigadores era mantener el laboratorio a 26,6° C, el pobre control de la temperatura provocó que algunos días se elevase hasta 28° C, informando en sus ratas macho unos índices de carrera relativamente bajos

⁴⁰ Este apunte conecta con otra evidencia desarrollada dentro del ámbito de investigación animal, por William Paré en 1977, que afirmó que existía una relación inversa entre los niveles de actividad de las ratas sometidas al procedimiento ABA y la temperatura corporal del corazón (Paré, 1977).

(280 metros/ día). Otro experimento llevado a cabo con ratas hembra consistente con estos datos, es el de Altemus, Glowa, Galliven, Leong y Murphy (1996). En dicho experimento la temperatura de laboratorio se estableció en 24° C y el programa de restricción de ingesta fue el mismo que para el experimento de Bolles y Duncan. Bajo tales condiciones y considerando que la actividad de las ratas hembra es muy superior a la desarrollada por los machos (Boakes et al., 1999; Lambert y Kingsley, 1993; Paré, 1975; Paré, Vicent, Isom y Reeves, 1978; Watanabe et al., 1990), sorprende el hecho de que el nivel de actividad de las ratas expuestas al procedimiento en un ambiente de 24° C no rebasase en ningún momento los 4 Km diarios, dato relativamente bajo ya que a una temperatura ambiente estándar de 20° C - 22° C, sería habitual que la actividad en la rueda superase los 10 Km diarios.

Sin duda esta relación inversa entre la temperatura ambiente y la rueda de actividad es de gran importancia, ya que la reducción de actividad que produce elevar la temperatura podría conducirnos a un menor gasto energético, reduciendo el índice de pérdida de peso y aumentando la supervivencia de los animales. Además el papel protector de la temperatura ambiente sobre los efectos del procedimiento ABA, no sólo afecta directamente a la pérdida de peso al inhibir la hiperactividad, sino que además tiene un efecto indirecto sobre la alimentación, ya que el elevado nivel de actividad deja de causar interferencia sobre la reducida ingesta⁴¹ (Gutiérrez y Vázquez, 2000).

Aunque el primer estudio sobre los efectos de la temperatura ambiental en el modelo ABA fue publicado por Hillebrand et al. (2005d), un año antes de la publicación de la serie de estudios publicados por Gutiérrez, Baysari, Carrera, Whitford y Boakes (2006), desde el 2001 comenzaron a realizarse una serie de experimentos en la Universidad de Sydney, en colaboración con el Profesor Robert Boakes, que culminaron en el 2004 con la estancia de Olaia Carrera en esa Universidad. Fruto de esa colaboración se publicaron cuatro

⁴¹ A primera vista confirmar que elevar la temperatura incrementa la ingesta, parece inconsistente con la teoría de la termorregulación de Brobeck porque en el proceso homeostático la ingesta está inversamente relacionada con la temperatura ambiente (Brobeck, 1960), sin embargo esta premisa no sería aplicable a las ratas sometidas a un programa de alimentación restringida, debido a la hipotermia que desarrollan (Gutiérrez y Vázquez, 2002).

estudios (Gutiérrez et al., 2006) que supusieron el primer examen del efecto de la temperatura ambiente sobre la pérdida de peso y la actividad en el modelo ABA. En los cuatro estudios se comparan los efectos de dos intensidades de temperatura ambiental: Neutral (21° C) y Elevada (27° C - 29° C).

En el primer experimento, en un diseño factorial 2 x 2, 32 ratas Wistar machos, en torno a los 50 días de edad, fueron asignados a una de dos condiciones de temperatura ambiental (Neutral - 21° C, o Elevada - 29° C) y a dos condiciones de actividad (sedentarias o con rueda), sometiéndolas a un programa de restricción de comida, constituyendo así dos grupos de ratas activas expuestas al procedimiento ABA estándar (21° C y 29° C) y dos grupos sedentarios (21° C y 29° C). Los resultados no dejaron lugar a dudas, todos los animales del grupo Neutro (21° C) alcanzaron el criterio de retirada, mientras que los animales del grupo a temperatura elevada (29° C) alcanzaron el criterio de recuperación, como se puede ver en la Figura 5. Sin embargo, los resultados con respecto a las diferencias en ingesta y actividad no fueron significativos. Aunque este experimento pretendía ser una réplica del experimento no publicado de Lambert (1993), las ratas expuestas a ABA a 29° C no mostraron una menor actividad en la rueda, debido quizás a la edad de los animales que mostraron un bajo nivel de actividad en ambas condiciones experimentales. Así, aunque en términos de pérdida de peso los resultados fueron claros, no se cumplieron las predicciones que esperaban una menor actividad en los animales expuestos a 29° C, y por ende, una menor inhibición de la ingesta.

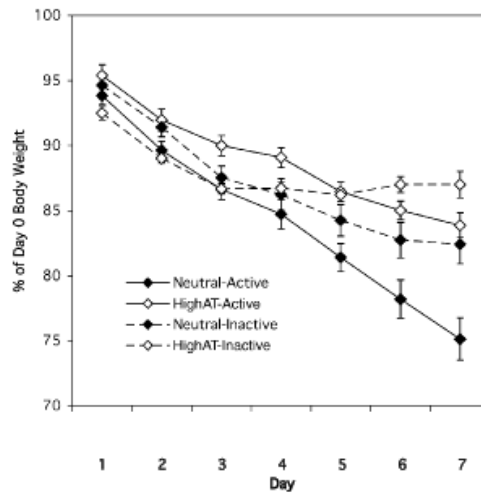


Figura 5. Cambios en peso corporal de animales expuestos a ABA estándar bajo dos condiciones de temperatura ambiental (Experimento 1. Figura tomada de Gutiérrez et al., 2006, p. 1199).

Esta ausencia de diferencias en actividad fue el punto de partida de un segundo experimento, en el que se diferenciaron dos fases. La Fase I duró 6 días, y fue similar al estudio anterior, excepto que los animales no tuvieron pre-exposición a la rueda. Dos grupos de 12 ratas Wistar macho de unos 70 días de edad, fueron expuestas a un ABA estándar en dos condiciones de temperatura (20° C y 27° C). Al sexto día, momento en el que se registró una primera caída de peso del 20% en una rata, las condiciones de temperatura ambiental se revirtieron de modo que, para el grupo que había estado a 20° C, la temperatura se elevó a 27° C (Neutro → Elevado), mientras que para el grupo expuesto a 27° C, la temperatura se redujo a 20° C (Elevado → Neutro), iniciándose así la Fase II del estudio. Esta fase se extendió durante 5 días más hasta el final del procedimiento. Los resultados para la primera fase mostraron que el grupo Neutro → Elevado perdió peso más rápidamente que el grupo Elevado → Neutro. Esta diferencia se mantuvo para la segunda fase, ya que el peso del grupo Elevado → Neutro superó al peso del grupo Neutro → Elevado. Con respecto a la ingesta, durante la primera fase el grupo Neutro → Elevado

incrementó significativamente su ingesta en comparación con el grupo Elevado
→ Neutro, pero no hubo diferencias significativas en la segunda fase (Figura 6).

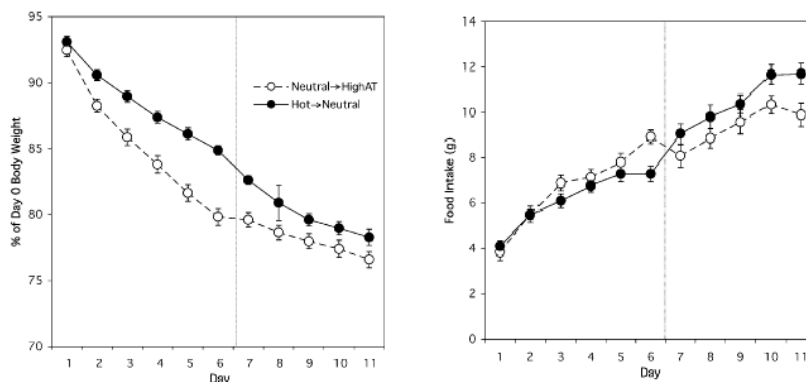


Figura 6. Cambios en peso corporal y la ingesta de animales expuestos a ABA en función de los cambios en la temperatura ambiental. La línea punteada separa la Fase I de la Fase II. (Experimento 2. Figura tomada Gutiérrez et al., 2006, p. 1202).

Por lo que respecta a la actividad, en la primera fase, ésta se incrementó más rápidamente en el grupo Neutro → Elevado; sin embargo cuando se elevó la temperatura en la segunda fase se produjo una marcada disminución de la carrera. En cambio el grupo al que se le que descendió la temperatura en la segunda fase (Elevado → Neutro), incrementó su nivel de actividad respecto a la primera fase (véase Figura 7).

Los resultados de este segundo estudio sugieren que la temperatura ambiente elevada modula no sólo la pérdida de peso sino también la actividad, aspecto que no había quedado claro en el primer estudio. Esta reducción de la actividad, como muestra el grupo Neutro → Elevado, puede darse después de que los animales llevarán incrementando su actividad durante varios días.

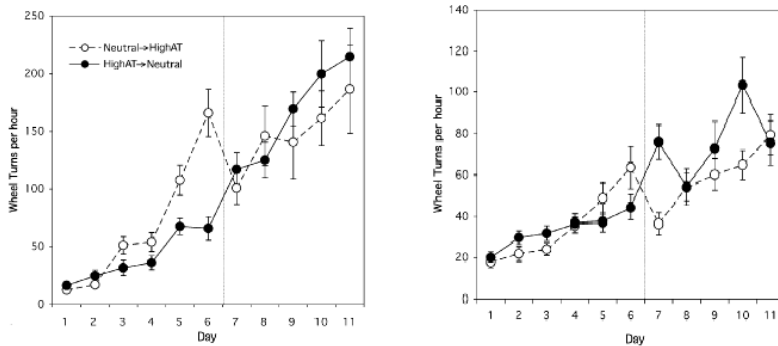


Figura 7. Cambios en la actividad de animales expuestos a ABA en función de los cambios en la temperatura ambiental. En el panel de la izquierda se muestra la actividad en las tres horas anteriores al tiempo de comida y en el panel derecho la actividad para el resto del día. La línea punteada separa la Fase I de la Fase II (Experimento 2. Figura tomada de Gutiérrez et al., 2006, p. 1203).

El tercer estudio se centró en la capacidad de recuperación de las ratas una vez que se había producido una pérdida de peso significativa y pretendía aclarar los resultados del estudio anterior, ya que muchas de las ratas no llegaron a alcanzar el criterio de recuperación. Así, en este tercer estudio 16 ratas Wistar hooded hembra de 91 días de edad, fueron expuestas a un procedimiento ABA estándar, como en el estudio 2. Sin embargo, en este estudio, una vez que los animales habían perdido un 20% de peso, todos los animales se veían privados del acceso a la rueda, pero se mantenían en el mismo programa de restricción de comida (1,5 h/día). Para la mitad de los animales se mantuvo la temperatura inicial (20° C), mientras que para la otra mitad se encendió una lámpara infrarroja que elevaba la temperatura de la caja hasta los 29,5° C. Bajo estas condiciones, aunque las ratas mantenidas a 20° C (temperatura neutra) consumieron más comida, todas tuvieron que ser retiradas ya que alcanzaron el criterio de retirada del 25% de pérdida de peso. Sin embargo, la mitad de las ratas alojadas en cajas calentadas a 29,5° C se recuperaron a pesar de consumir menos comida (Figura 8).

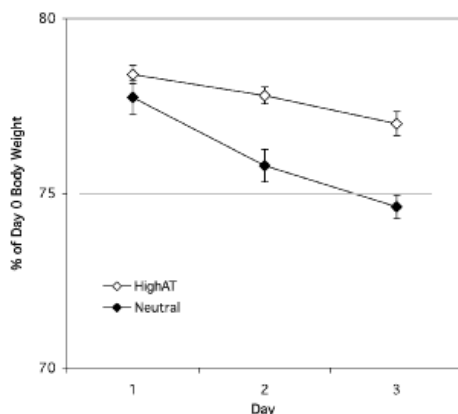


Figura 8. Cambios en el peso en los tres días posteriores a que cada rata alcanzara el 20% de pérdida de peso en un ABA estándar, momento en el que se privó a las ratas del acceso a la rueda y los animales fueron alojados a diferente temperatura ambiental. (Experimento 3. Figura tomada de Gutiérrez et al., 2006, p. 1206).

El cuarto experimento tenía como objetivo poner a prueba una explicación alternativa para explicar la mayor pérdida de peso en las ratas alojadas individualmente, después de haber sido expuestas a la rueda durante un período de tres horas, en comparación con las ratas alojadas en grupo. Frente a la interpretación de Boakes y Dwyer (1997) de que el estrés provocado por el aislamiento social era el factor responsable, el estudio pretendía mostrar que la pérdida de peso asociada al alojamiento individual, era una consecuencia de la disipación de calor corporal por la ausencia de congéneres, ya que habitualmente las ratas alojadas en grupo se acurrucan unas contra otras, disminuyendo la superficie expuesta al ambiente y utilizando a las compañeras como una fuente de calor. El experimento fue realizado con 16 ratas Wistar hooded hembra, como en el estudio anterior, de aproximadamente 76 días de edad. El procedimiento empleado fue una variación del procedimiento ABA en cuanto al tiempo de acceso a la rueda, ya que la mitad de las ratas tenían acceso a la rueda sólo durante 3 horas al día (Activas), mientras que la otra mitad permanecía alojada en su caja individual (Sedentarias). Durante 4,5 h/día, el tiempo de acceso a la rueda del grupo

Activo y la 1,5 h/día de acceso a la comida, todas las ratas (Activas y Sedentarias) se mantuvieron a 21° C, mientras que el resto del día ambos grupos (Activos y Sedentarios) eran asignados a dos temperaturas diferentes, 21° C y 29° C. Los resultados de este experimento mostraron claramente que la aplicación de calor durante periodos de inactividad atenuaba los efectos causados por la actividad, ya que de los 16 animales mantenidos a 21° C alcanzaron todos el criterio de retirada (ver Figura 9), mientras que sólo 2 animales del grupo con una temperatura elevada, tuvieron que ser retirados (curiosamente perteneciente al grupo Sedentario a 29° C). Además, la permanencia a 29° C tuvo un efecto significativo sobre la actividad de los animales durante el tiempo de acceso a la rueda, como se muestra en la Figura 9.

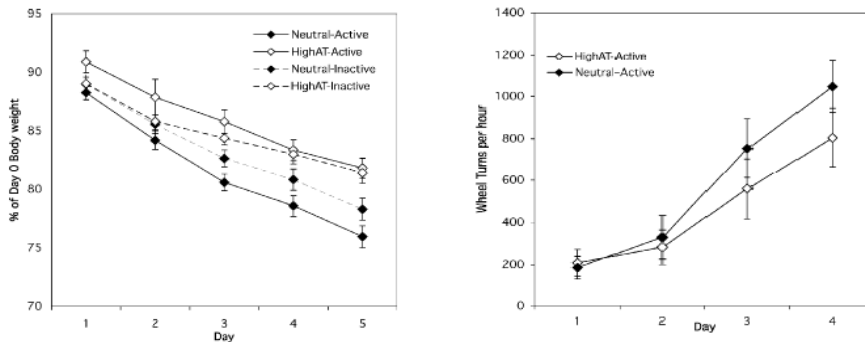


Figura 9. Cambios en el peso y la actividad de los animales como resultado del acceso restringido (3h/día) a la rueda de actividad y del alojamiento a diferente temperatura ambiental. (Experimento 4. Figura tomada de Gutiérrez et al., 2006, p. 1207-1208).

En conjunto los resultados de los cuatro estudios publicados por Gutiérrez et al. (2006) muestran que la temperatura ambiental modula la actividad y la pérdida de peso, incluso cuando el acceso a la rueda de actividad es restringido. Además, los resultados del tercer estudio muestran que los animales que han perdido un porcentaje de peso elevado, son incapaces de recuperarse aunque se bloquee el acceso a la rueda, pero curiosamente se recuperan si la temperatura se eleva hasta la zona termoneutral, incluso a

expensas de una menor ingesta. Sin embargo, debido a que en estos estudios no se monitorizó la temperatura corporal de las ratas, aunque los resultados van en la dirección propuesta por la hipótesis de Gutiérrez, Vázquez y Boakes (2002), esta evidencia debe de ser considerada como indirecta.

Un test más directo del planteamiento termorregulador de la actividad en los animales expuestos al procedimiento ABA (Gutiérrez y Vázquez, 2000), fue el estudio realizado en el Rudolf Magnus Institute por Jacqueliën Hillebrand (Hillebrand et al., 2005d). En ese estudio, dos grupos de animales fueron asignados a dos condiciones experimentales diferentes. Mientras un grupo de ratas ($n = 6$) fueron expuestas al procedimiento ABA estándar, otro grupo ($n = 7$), expuesto igualmente al procedimiento ABA, tenía acceso a una placa de aluminio que ocupaba la cuarta parte de la caja de alojamiento adyacente a la rueda de actividad y que podía calentarse por medio de un circuito de agua⁴² a 37° C. Después de un período de alimentación ad libitum, en el que las ratas tenían acceso a la rueda de actividad, se inició la restricción de ingesta que se mantuvo durante seis días consecutivos, hasta que las ratas fueron decapitadas.

Los resultados apuntaron que, mientras las ratas en el periodo de alimentación ad libitum no mostraban preferencia por ningún área de la caja, tras la restricción de ingesta, los animales mostraron una clara preferencia por el área de la caja que contenía la placa caliente, previniendo así la hipotermia⁴³, evidente en los animales sometidos a ABA sin posibilidad de acceder a una fuente de calor. A su vez, estas ratas que no contaban con la placa caliente, estuvieron más tiempo en la rueda de actividad, lo que se tradujo en un número de revoluciones mucho mayor en comparación con las ratas que si tenían acceso a la fuente de calor. Además, aunque la presencia de la placa caliente no produjo diferencias significativas entre los grupos en la

⁴² Esta estrategia de administración de calor no afectaba a la temperatura ambiente que fue de $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ para ambos grupos.

⁴³ Todos los animales llevaban insertados transmisores de temperatura en la cavidad abdominal.

cantidad de ingesta realizada, si lo hizo en el peso corporal⁴⁴. En cuanto a la temperatura corporal cabe mencionar que en el periodo de alimentación ad libitum, no hubo diferencias significativas entre ambos grupos, y aunque durante el periodo de alimentación restringida, la temperatura corporal se incrementó inmediatamente después de realizar ejercicio en la rueda, la baja temperatura corporal no se encontró correlacionada con el nivel de actividad que manifestaban durante la fase de luz.

Este efecto positivo de la actividad sobre la temperatura y la ausencia de relación de la temperatura corporal con la actividad, es similar al encontrado por Morrow et al., 1997: *“these findings indicate that changes in wheel running altered body temperature but that fluctuations in body temperature did not initiate bouts of wheel running”* (Morrow, 1997, p. 823); lo que demuestra que el incremento inicial de la actividad depende de otros factores además de la regulación de la temperatura. Sin embargo, tanto los resultados de Morrow et al. (1997) como los de Hillebrand et al. (2005d) muestran que aunque la relación entre temperatura corporal y actividad están disociados al inicio, a medida que avanzan los días, y la pérdida de peso es más acusada, temperatura y actividad comienzan a sincronizarse. Los datos de estos estudios también apuntan claramente que, una vez que la temperatura corporal ha comenzado a disminuir, debido a la progresiva pérdida de peso, si las ratas pueden elegir, prefieren acercarse a una fuente de calor (Hillebrand et al., 2005d), o que si la temperatura ambiental es alta, disminuyen sensiblemente su actividad⁴⁵ (Morrow et al., 1997).

⁴⁴ Sin embargo de acuerdo con los análisis realizados la cantidad de tejido adiposo y los niveles de leptina en plasma no marcaron ninguna diferencia.

⁴⁵ Además cuando el ambiente es frío y los animales pueden encender una lámpara infrarroja (Carlton y Marks, 1958; Weiss y Laties, 1961), los animales se esfuerzan aún más cuando se les priva de comida (Hamilton, 1959; Weiss, 1957a, 1957b) y cuando la intensidad o duración del encendido de la lámpara se reduce (Weiss y Laties, 1960). También la actividad en la rueda pasa a un segundo plano cuando existe la alternativa de entrar en una cámara caliente (Campbell y Linch, 1968) o la posibilidad de activar una lámpara infrarroja (Hamilton, 1969; Hamilton y Brobeck, 1964). Aunque el gasto energético en ambos procedimientos es mínimo, y no es comparable con el coste asociado a la alternativa de incrementar la actividad física para elevar de inmediato la temperatura corporal (Campbell y Linch, 1967; Thompson y Stevenson, 1963), estos hallazgos refuerzan la naturaleza termorregulatoria de la actividad.

4. Reversión de ABA manipulando la temperatura ambiental

Como acabamos de ver, el incremento de la temperatura ambiental es una manipulación simple que impide el desarrollo de la triada de consecuencias que conlleva para los animales la exposición al procedimiento ABA. Sin embargo, la investigación realizada hasta el momento con la manipulación de la temperatura ambiental (Morrow et al., 1997; Gutiérrez et al., 2006) o directamente con la prevención de la hipotermia (Hillebrand, 2005), no supone un apoyo directo completo al planteamiento del carácter termorregulatorio de la actividad en el modelo ABA. No obstante, existen otros estudios que muestran que la eficacia de diferentes intervenciones farmacológicas ensayadas con este modelo y que también frenan el desarrollo de la actividad física, o bien aumentan la temperatura corporal, o bien inhiben la hipotermia. Este es el caso de la administración intracerebroventricular (ICV) del péptido relacionado con Agouti (AgRP)⁴⁶, el agonista inverso del receptor de melanocortinas MC4 (Hillebrand, Kas, Scheurink, van Dijk y Adam, 2006b), y de la hormona leptina segregada por los adipocitos, (Hillebrand et al., 2005c), así como en la administración periférica del antipsicótico atípico olanzapina (Hillebrand, van Elburg, Kas, Van Engeland y Adan, 2005a). Conjuntamente estos resultados son coherentes con la hipótesis termorregulatoria de la actividad, que sostiene que la temperatura corporal es un parámetro importante en ABA y predice que si la temperatura ambiente es elevada, la actividad en la rueda disminuirá, ya que el ambiente calentado reduce la necesidad de generar calor por medio de la actividad.

⁴⁶ Agouti es un roedor de tamaño mediano, un poco más grande que los guinea pig. El péptido **AgRP** se coexpresa junto con NPY únicamente en el núcleo arqueado del hipotálamo y presenta una potente acción estimulante del apetito y de la ganancia de peso corporal cuando se administra en el sistema nervioso central. Los ratones agouti no son obesos pero a partir de ellos se llegó al conocimiento de un mutante, el ratón agouti obeso amarillo (A^y/a), que desarrolla una obesidad tardía que se asocia a hiperfagia y a una pigmentación anómala del pelo de color amarillo. La proteína agouti, en este caso, es capaz de antagonizar la unión de α -MSH no sólo al receptor 1 de melanocortina del pelo (MC1), sino también a los receptores 3 y 4 (MC3 y MC4) que se encuentran en el hipotálamo, evitando la acción anorexígena de esta hormona y estimulando por tanto el apetito. En 1997, en humanos, y basándose en su homología con el gen agouti, Shutter, Graham, Kinsey, Scully, Lüthy y Stark, (1997) definieron y aislaron AGRP, que antagonizaba la acción anorexígena de la α -MSH tanto en los receptores MC3 como en los MC4, pero no actuaba en los MC1.

El planteamiento de la parte experimental de esta tesis, que vamos a desarrollar a continuación, se centra en el estudio del papel modulador de la temperatura en el modelo ABA, ya que este parámetro experimental es un potente modulador de la actividad en la rueda, la pérdida de peso corporal, la hipotermia y el índice de supervivencia en ratas ABA. Sin embargo, pretendemos avanzar en el estudio de este papel modulador, explorando la capacidad de la temperatura ambiental para revertir esas consecuencias, una vez que han superado un nivel crítico y rebasan las capacidades de los animales de sobrevivir por sus propios medios.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Introducción general

En el capítulo 2 de la parte teórica, hemos descrito un procedimiento experimental sumamente estresante para los animales, que ha generado una gran cantidad de estudios y que se conoce por sus siglas ABA, que consiste en restringir el acceso a la comida y facilitar el acceso a una rueda de actividad, condiciones bajo las cuales los animales corren cada día más, muestran una pérdida de peso progresiva y no son capaces de incrementar la ingesta diaria de comida lo suficiente como para compensar la pérdida de peso (Routtenberg y Kuznesof, 1967). Además, este procedimiento ABA es ampliamente aceptado como una propuesta análoga de la anorexia nerviosa en humanos (Epling et al., 1983).

Las manipulaciones experimentales de la temperatura ambiental evitan el desarrollo de las consecuencias que caracterizan la exposición al procedimiento ABA (Gutiérrez et al., 2006; Hillebrand et al., 2005d; Morrow et al., 1997). Sin embargo, a pesar del interés que este modelo ha despertado entre investigadores y clínicos, casi toda la investigación se ha centrado en el estudio de parámetros e intervenciones que agravan, impiden, facilitan o aceleran las consecuencias de la exposición de los animales a ABA, e inexplicablemente uno de esos factores, la temperatura ambiental, ha sido un aspecto que no ha interesado a la investigación hasta la revisión de Gutiérrez et al. (2002). No obstante, la investigación realizada hasta la fecha sobre esta variable se ha centrado en la prevención de la aceleración de la actividad, la reducción de la ingesta, y en la pérdida de peso, mostrando que es un potente factor modulador de esos apartados.

Aunque esta investigación es importante en sí misma, la utilidad de los modelos animales, y del modelo ABA en concreto, como ya hemos planteado, no debe perder la vocación de servir a los propósitos de una investigación translacional para generar datos que permitan la introducción racional y eficiente de tratamientos que puedan beneficiar a las pacientes con anorexia

nerviosa. En este sentido, entendemos que la investigación traslativa debe tener como fin último llevar el conocimiento generado hasta el punto final que no es otro que el desarrollo de tratamientos más eficaces.

El planteamiento de la parte experimental que vamos a desarrollar a continuación, pretende estudiar los efectos terapéuticos que para los animales expuestos a ABA, tiene la temperatura ambiental elevada. Este es un paso más allá de los estudios centrados en la prevención de ABA, hacia el intento de reversión de las consecuencias de la exposición a ABA, con lo que la analogía propia del modelo queda reforzada al centrarnos en la recuperación de los animales una vez que el “trastorno” - la Anorexia Basada en la Actividad- ya ha sido desarrollado. Además de intentar recuperar a los animales, pretendemos estudiar algunos de los posibles mecanismos implicados en el comportamiento de los animales expuestos al procedimiento.

El desarrollo empírico de esta tesis consta de cuatro experimentos llevados a cabo en las instalaciones del animalario de la Facultad de Biología de la Universidad de Santiago de Compostela, y en uno de ellos contamos con la colaboración de colegas del Departamento de Fisiología y del Departamento de Farmacia y Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia del País Vasco. Debido a que dos de los estudios ya han sido publicados, reproducimos el texto original en inglés traducido al castellano. Estas publicaciones se recogen en los capítulos 3 y 6 de la parte experimental de esta tesis:

- Gutiérrez, E., Cerrato, M., Carrera, O. y Vázquez, R. (2008). Heat reversal of activity-based anorexia: implications for the treatment of anorexia nervosa. *International Journal of eating Disorders*, 41, 594-601.
- Gutiérrez, E., Churrua, I., Zárate, J., Carrera, O., Portillo, M. P., Cerrato, M., Vázquez, R. y Echevarría, E. (2009). High ambient temperature reverses hypothalamic MC4 receptor overexpression in an animal model of anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, 34, 420-429.

CAPÍTULO 3

El efecto del calor en el
procedimiento de Anorexia
Basada en la Actividad (ABA):
implicaciones para el tratamiento
de la Anorexia Nerviosa

1. Introducción

La anorexia nerviosa (AN) es un trastorno psiquiátrico para el que no existe ningún tratamiento eficaz, ya sea psicológico o farmacológico (Bulik et al., 2007). Esta ausencia de tratamiento eficaz para la AN podría deberse a la forma en que ha sido conceptualizado este trastorno durante los últimos 40 años, fundamentalmente como un constructo psicológico basado en las distorsiones de la imagen corporal (Garner, 1993). De acuerdo con este punto de vista, la hiperactividad se concibe exclusivamente como una estrategia voluntaria, orientada a quemar calorías (Klein et al., 2007). Esta concepción del ejercicio físico excesivo se ve reflejada en dos ítems del EAT (*Eating Attitudes Test*) (Garner y Garfinkel, 1979), uno de los cuestionarios más frecuentemente empleados para detectar la presencia de trastornos de la conducta alimentaria: *Hago mucho ejercicio para quemar calorías* (ítem 16) y *Pienso en quemar calorías cuando hago ejercicio* (ítem 22) (Garner, Olmsted, Bohr y Garfinkel, 1982).

Históricamente, con la excepción de algunos casos aislados (Kron et al., 1978), la hiperactividad ha recibido una escasa consideración desde las diferentes conceptualizaciones del trastorno. Sin embargo, en esta última década los factores neurobiológicos que subyacen a este comportamiento han recibido una mayor atención por parte de investigadores (Casper, 1998, 2006; Davis, Katzman y Kirsh, 1999), que se han visto obligados a reconsiderar la significación de este comportamiento paradójico. Este giro en la conceptualización de la hiperactividad, que subraya el papel de la actividad excesiva en el desarrollo y mantenimiento del trastorno (Davis, 1997), se ha visto apoyado por la investigación realizada con un modelo animal análogo al trastorno en humanos, conocido como Anorexia Basada en la Actividad (ABA) (Epling et al., 1983).

Aunque ABA, debido a su propia naturaleza como modelo animal, es incapaz de reproducir los procesos mentales que caracterizan a la AN, su analogía se fundamenta en el paralelismo que existe entre algunos aspectos

del trastorno humano y las características que muestran las ratas sometidas a restricción de comida con acceso a una rueda de actividad. Bajo estas condiciones, las ratas aumentan su carrera progresivamente, disminuyen su ingesta diaria (ya que comen una cantidad de comida inferior al grupo sedentario durante el mismo periodo de alimentación), y muestran una acentuada pérdida de peso, hipotermia e interrupción del ciclo estral. Estas consecuencias del procedimiento ABA conducirían a la muerte a la mayoría de los animales de no ser éstos retirados de la situación experimental (Gutiérrez et al., 2002; Routtenberg y Kuznesof, 1967). Este modelo animal ha contribuido a una mejor comprensión de la interacción entre inanición e hiperactividad, y algunas intervenciones farmacológicas han resultado moderadamente exitosas en la prevención parcial del desarrollo de las consecuencias de ABA. Estos estudios se basaron principalmente en sistemas neuroendocrinos, bien conocidos por su implicación en la homeostasis energética. Algunos se centraron en las señales periféricas hipotalámicas, como es el caso de la leptina secretada por los adipocitos (Exner et al, 2000, Hillebrand et al., 2005a), mientras que otros profundizaron en los sistemas centrales como el melanocortinérgico (MC) (Hillebrand, Kas, Scheurink, van Dijk y Adan, 2006b; Kas et al., 2003), o el serotoninérgico (5-HT) (Atchley y Eckel, 2006). Sin embargo, la investigación realizada con el modelo ABA todavía no ha encontrado ningún agente farmacológico que ayude a la recuperación de las ratas una vez que la actividad es excesiva y la pérdida de peso excede el 20 % respecto el peso corporal inicial. Por lo tanto, profundizar en la manera de invertir las consecuencias del procedimiento ABA, podría contribuir al manejo del trastorno en humanos.

Se han propuesto varias explicaciones de por qué los animales incrementan la actividad en la rueda a pesar de estar sometidos a restricción alimentaria. Algunos autores proponen que la carrera excesiva es una forma de comportamiento de forrajeo (Spatz y Jones, 1971). Otros en cambio interpretan que la actividad es el resultado de varios mecanismos fisiológicos implicados en la activación de las vías dopaminérgicas implicadas en el refuerzo (Bergh y Södersten, 1996); e incluso se ha señalado la posibilidad de que se trate de una forma de auto-adicción al incremento de la secreción de opioides

endógenos, producido por la actividad física (Aravich, 1996). Un enfoque alternativo sugiere que la actividad en ABA es un tipo de comportamiento termorregulatorio para adaptarse a la hipotermia inducida por el programa de restricción de ingesta y la consecuente pérdida de peso (Gutiérrez et al., 2002).

La evidencia que sustenta esta hipótesis se deriva del hallazgo de que las ratas ABA prefieren acceder a una placa caliente que a la rueda de actividad (Hillebrand et al., 2005a); y de que, tal y como se ha demostrado en investigaciones previas, una temperatura ambiente elevada previene el desarrollo de ABA (Gutiérrez et al., 2006). Esta investigación desarrollada para evaluar el efecto de la temperatura ambiente elevada en ratas expuestas al procedimiento ABA encontró que, una vez que los animales habían sido expuestos al procedimiento, a una temperatura estándar (21° C), el hecho de incrementar la temperatura ambiente (27° C - 29° C) sólo tenía efectos pasajeros sobre la pérdida de peso (Gutiérrez et al., 2006). Sin embargo, este estudio tiene dos inconvenientes a destacar:

- a) El equipamiento del laboratorio no permitía un control individualizado de la temperatura ambiente, de manera que la temperatura se ajustó siguiendo un criterio grupal.
- b) Elevar la temperatura a 27° C fue probablemente insuficiente ya que esta temperatura se sitúa en el rango inferior de la zona termoneutral de las ratas.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial efecto del calor para invertir las consecuencias del procedimiento ABA una vez que la actividad fuese excesiva y la pérdida de peso considerable. Este experimento pretende continuar la línea de investigación del trabajo que hemos mencionado previamente, mejorando el diseño experimental mediante el control individualizado de la temperatura ambiente para cada rata, e incrementando la temperatura ambiente a 32° C.

2. Método

2.1. Sujetos

Cuarenta y ocho ratas macho Sprague-Dawley (de 6 semanas de edad aproximadamente), con un rango de peso de 164 – 186 g, fueron adquiridas en el Animalario Central de la Universidad de Santiago de Compostela (USC). Las ratas fueron alojadas durante tres días consecutivos en el estabulario con comida y agua ad libitum, siendo el ciclo de luz / oscuridad de 12 horas, de 8:00 a 20:00 h. La temperatura ambiente se estableció en 21° C.

El comité ético del uso y cuidado de los animales de la Universidad Santiago de Compostela aprobó los procedimientos descritos. Todos los experimentos cumplieron con la Directiva del Consejo de la comunidad Europea del 24 de Noviembre de 1986 y D. L. del 27 de Enero de 1992, 116 (86/609/CEE), esforzándonos al máximo para minimizar el sufrimiento del animal y reducir al mínimo el número de animales empleados.

2.2. Aparatos

El laboratorio contenía 8 ruedas de actividad tipo Wahman (circunferencia de 1,1 m de desarrollo, superficie de 10 cm de ancho, suelo de rejilla metálica y paredes de plexiglás). Estas ruedas contaban con una caja acrílica adosada (28 x 28 x 14 cm³), con una rejilla metálica superior donde se introducía la botella de agua y la comida. Las ruedas y las cajas fueron introducidas en cajas incubadoras de madera (60 x 60 x 60 cm³) con techos de policarbonato, provistas de una lámpara de calor de 150 W conectada a un termostato digital cuya sonda estaba posicionada al mismo nivel del animal, permitiéndonos un control individualizado de la temperatura ambiente de cada animal. La misma cantidad de cajas acrílicas (28 x 28 x 14 cm³) fueron empleadas para el grupo sedentario.

2.3. Procedimiento

Las ratas fueron encargadas de forma sucesiva, en tres tandas de 16 ratas de cada vez. Los animales fueron asignados a las condiciones de Actividad ($n = 24$) y Sedentarismo ($n = 24$) mediante una asignación aleatoria por bloques (constituidos por el peso). Las ratas de la condición Activa fueron alojadas dentro de las incubadoras, en las cajas adosadas a las ruedas de actividad, permitiéndoles acceder libremente a la rueda 2 horas al día durante tres días. Mientras tanto, las ratas sedentarias permanecieron en sus cajas, que también estaban situadas dentro de la caja incubadora. Así pues, de ahora en adelante, los términos Activo y Sedentario designarán animales o grupos de animales, con y sin acceso a la rueda de actividad respectivamente. Durante este periodo pre-experimental y a lo largo del experimento, las ratas fueron pesadas diariamente entre las 12:00 y las 13:00 horas, estableciéndose una temperatura de 21° C en todas las incubadoras para este periodo pre-experimental.

El procedimiento ABA comenzó con la retirada de la comida a las 14:30 h para los grupos Activos y Sedentarios (Día 0). Al mismo tiempo, se abrieron las puertas de la rueda para las ratas Activas. Desde el Día 1 en adelante todas las ratas tuvieron acceso a la comida de 12:30 - 14:00 h, cerrándose las puertas de las ruedas durante el periodo de alimentación. Esta fase continuó para cada una de las ratas Activas hasta que perdieron el 20% de su peso corporal inicial registrado en el Día 0. Una vez que los animales alcanzaron este criterio inicial de pérdida de peso corporal (CPP 20%), fueron asignados a uno de los siguientes grupos: a un grupo Activo a temperatura ambiente elevada en el que el termostato de la incubadora se elevó a 32° C (AC 21/32), o a un grupo Activo estándar en el cual la temperatura ambiente se mantuvo sin cambios a 21° C (AC 21/21). Para la asignación de las ratas a cada uno de estos dos grupos, se controló el tiempo que tardaron en alcanzar el criterio del 20 % de pérdida de peso corporal. De este modo, la primera rata en alcanzar el criterio establecido fue asignada a la condición de temperatura elevada a 32° C, el segundo animal fue asignado a una temperatura estándar de 21° C, el tercer

nuevamente a 32° C, el cuarto a 21° C y así sucesivamente. Un número equivalente de animales sedentarios, emparejados previamente por el peso corporal inicial, fueron uncidos a los animales Activos para experimentar el mismo cambio en la temperatura ambiente, formando así dos grupos sedentarios: un grupo Sedentario a temperatura elevada (SED 21/32), y un grupo Sedentario a temperatura estándar (SED 21/21). Estas condiciones se mantuvieron hasta que las ratas o bien alcanzaron el criterio de recuperación definido como peso corporal de un día cualquiera (Día n), mayor que el peso corporal del animal 4 días antes (Día $n - 4$), tal como se establece en el trabajo pionero de Routtemberg y Kuznesof en 1967; o bien el criterio de retirada que fue definido por un peso corporal inferior al 75% respecto al Día 0. Aquellos animales cuyo peso corporal no disminuyó lo suficiente como para alcanzar el criterio de retirada, ni tampoco se incrementó hasta permitir la recuperación, fueron clasificados como animales intermedios. La duración total del experimento se estableció en 15 días, tiempo más que suficiente para que la mayoría de los animales hayan alcanzado uno de los dos criterios. Una vez retirados de la situación experimental, y por tanto sin acceso a la rueda de actividad, los animales tuvieron acceso ilimitado a la comida.

2.4. Análisis estadístico

Se analizaron cinco variables dependientes: peso corporal, ingesta de comida, vueltas en la rueda, días en alcanzar el criterio de pérdida de peso (CPP 20%) y días en alcanzar el criterio de recuperación /retirada.

Para analizar las variables peso corporal, ingesta de comida, y vueltas en la rueda, empleamos un análisis de varianza de medidas repetidas a lo largo de los días, hasta que la primera rata fue eliminada (ANOVA), tomando como factores independientes la temperatura ambiente y la condición de Actividad (AC vs. SED). La prueba t de Student fue aplicada para comparar las posibles diferencias iniciales entre los grupos estudiados. Los días que tardaron en alcanzar el CPP 20% fueron analizados usando un análisis no

paramétrico (Mann–Whitney U-test). Para todos los análisis se tomó un alfa de .05.

3. Resultados

Sólo cinco de las 24 ratas activas no alcanzaron el criterio de pérdida de peso corporal del 20% inicialmente establecido (CPP 20%). Estas cinco ratas junto con sus homólogas uncidas del grupo sedentario, fueron descartadas. Las 19 ratas restantes alcanzaron el CPP 20% en una media de 6 días (4–9 días) y fueron asignadas, o bien al grupo sometido a temperatura ambiente elevada (AC 21/32, $n = 10$), o bien permanecieron a la temperatura estándar (AC 21/21, $n = 9$). Respecto al número de días que tardaron las ratas en alcanzar el CPP 20% no hubo diferencias entre los grupos (AC 21/32 = 6 días; AC 21/21 = 7 días, Mann-Whitney $U(9, 10) = 29$; $p = .18$). Los animales sedentarios uncidos también se dividieron en dos grupos, experimentando los mismos cambios de temperatura que los animales Activos a los que estaban uncidos. Retrospectivamente, una vez descartados los animales que no alcanzaron el CPP 20% y sus homólogos sedentarios uncidos, tampoco hubo diferencias en el peso corporal de estos cuatro grupos en el Día 0, cuya Media y SEM se presentan a continuación: AC32/21, $224,2 \text{ g} \pm 2,5 \text{ g}$; AC21/21, $217,7 \text{ g} \pm 3 \text{ g}$; SED32/21, $227,1 \text{ g} \pm 2,5 \text{ g}$; y SED21/21, $224 \text{ g} \pm 2,9 \text{ g}$.

3.1. Fase I

Primero, presentaremos los resultados para esta primera fase cuando todos los animales de la condición Activa y Sedentaria estaban alojados a una temperatura ambiente estándar de 21°C . Con respecto a la actividad en la rueda de los animales activos, la Figura 10 muestra la distancia recorrida durante las 22,5 horas, periodo de acceso a la rueda de actividad. Estos datos se representaron teniendo en cuenta el tiempo requerido por cada rata Activa para alcanzar el CPP 20%. Puesto que los animales alcanzaron el criterio en días diferentes, y algunos de ellos lo hicieron al cuarto día del experimento, sólo se representan los datos de los últimos 4 días, anteriores al día en que

cada animal, de forma individual, alcanzaba el CPP 20%. Así pues, en las figuras se representa siempre la Media y el SEM para los grupos al completo. Por tanto, en la abscisa de la Figura 10 sólo se muestran cuatro puntos para la Fase I (Día -3, Día -2, Día -1 y el Día en el que alcanzaron el CPP del 20%). La actividad se incrementó de manera constante para todos los animales Activos desde el primer día que tuvieron acceso a la rueda, hasta el día en que alcanzaron el criterio para el cambio de fase (el mayor incremento registrado fue de 555 metros a 8787 metros; y el menor de 1050 metros a 3518 metros). En la Figura 10A se muestra la actividad media diaria para ambos grupos durante estos cuatro días que abarca la Fase I.

A pesar de haber igualado a los grupos en cuanto a la variable peso, se observó una diferencia significativa en la actividad realizada por los dos grupos activos, ya que el grupo asignado a la condición AC21/21 realizó una mayor actividad en la rueda tal y como lo demuestra el resultado del ANOVA, que detectó un efecto principal $F(1, 17) = 1,592$; $p = .024$, pero no interacción $F(3, 51) = 1,608$; $p = .219$.

En la Figura 10B se muestra el peso corporal de los cuatro grupos durante la primera fase. Como esperábamos, durante esta fase los animales Activos perdieron más peso que los Sedentarios, $F(1, 36) = 18,87$; $p = .0001$, y la interacción entre los grupos y la tendencia también fueron significativas, $F(3, 108) = 19,17$; $p = .0001$, indicando un índice de pérdida de peso más rápido para los animales Activos, tal como se refleja en la Figura 10. Sin embargo, no hubo diferencias en el peso corporal previo al Día CPP 20% para aquellos animales que posteriormente fueron asignados a las condiciones de temperatura ambiente elevada y temperatura ambiente estándar, $p > .05$. Tampoco hubo ninguna diferencia ni interacción a lo largo de los días en los grupos Sedentarios, todas las $p > .05$.

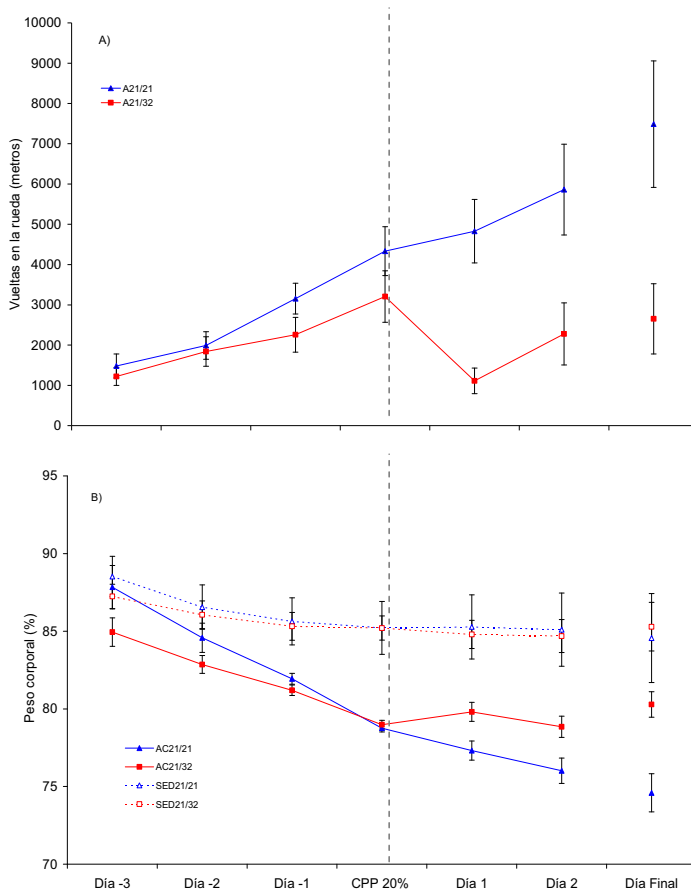


Figura 10. En la Figura 1A: Media \pm SEM de las vueltas en la rueda los días previos y posteriores a alcanzar el CPP del 20%, y el Día Final del experimento. Figura 1B: Media \pm SEM del peso corporal relativo al peso en el Día 0, para los mismos días que se representan en la Figura 1A. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos AC21/32 y SED21/32.

La Figura 11 hace referencia a la ingesta. La Fase I comprende los primeros tres puntos, dado que el cambio de temperatura se realizó después de haber registrado el peso de las ratas pero antes de que tuviesen acceso a la comida (ver método). La ingesta registrada para los animales AC21/32 y SED21/32 el día que alcanzaron el CPP 20%, tuvo lugar a una temperatura ambiente elevada, por lo que ya se corresponde con la Fase II.

Como esperábamos de previos experimentos de ABA, la ingesta de las ratas Activas fue inferior a la de las ratas Sedentarias, $F(1, 36) = 19,63$; $p = .0001$, pero no se encontró interacción $F(2, 72) = 1,821$; $p = .169$. Además, en esta fase no hubo diferencias entre los animales Activos y Sedentarios en función del factor temperatura, $F_s < 1$.

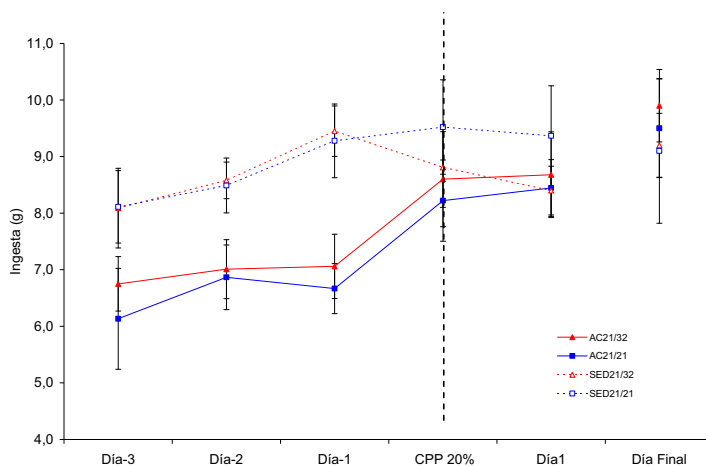


Figura 11. Ingesta media (\pm SEM) a lo largo de los días para las ratas Activas y Sedentarias. Nota: Sólo se muestran seis puntos en el eje de abscisas ya que el experimento se terminó después de haber registrado el peso de las ratas y antes registrar la ingesta. La línea vertical punteada indica el punto en el que la temperatura ambiente se aumentó a 32° C para el grupo AC21/32 y para el grupo SED21/32.

3.2. Fase II

La segunda fase comenzó una vez que los animales Activos alcanzaron el CPP 20% y fueron asignados a una temperatura ambiente estándar de 21° C o a una temperatura elevada de 32° C. Esta segunda fase duró hasta que los animales alcanzaron el criterio de retirada o el de recuperación (ver método). Asimismo, un número equivalente de animales sedentarios uncidos fueron asignados a estas dos condiciones de temperatura. En la Figura 10, para esta segunda fase, sólo aparecen tres puntos representados en el eje de abscisas

debido a que cuatro ratas Activas, mantenidas a temperatura estándar, alcanzaron el criterio de retirada al tercer día de la segunda fase.

Durante esta segunda fase, las ratas Activas mantenidas a temperatura estándar de 21° C duplicaron la carrera, mientras que los animales calentados a 32° C redujeron su actividad respecto a la Fase I. Un ANOVA de medidas repetidas a lo largo de los días reveló que las ratas mantenidas a 21° C corrieron más que los animales mantenidos a 32° C, $F(1, 17) = 15,56$; $p = .001$. Como se ilustra en la Figura 10A en el Día Final de esta segunda fase los animales mantenidos a 21° C corrieron de media unas 3 veces más que los animales mantenidos a una temperatura elevada de 32° C, $t(17) = 3,17$; $p = .006$.

Respecto al peso corporal, las ratas activas mantenidas a temperatura estándar continuaron perdiendo peso. Un ANOVA de medidas repetidas para los datos representados en la Figura 10B (Fase II), confirmó que el peso corporal de los animales calentados (AC21/32) fue significativamente superior al de los animales mantenidos a temperatura estándar (AC21/21), $F(1, 17) = 21,86$; $p = .0001$ y, que esta diferencia fue incrementando gradualmente a lo largo de los días, $F(2, 34) = 10,72$; $p = .0001$. El factor temperatura no produjo diferencias entre los dos grupos de animales Sedentarios en cuanto al peso medio, ni tampoco hubo diferencias significativas en la tendencia a lo largo de los días ($F_s < 1$).

Un total de 8 de los 9 animales Activos que evolucionaban a temperatura estándar, tuvieron que ser retirados del experimento porque alcanzaron el criterio de retirada al perder el 25% de su peso corporal inicial (Media = 4 días, rango de 3 - 7 días). Por el contrario, todos los animales calentados ganaron peso, recuperándose el 100% de los animales (Media = 5 días, de 3 - 9 días), prueba de Fisher, $p < .0001$.

Con respecto a los grupos sedentarios, sólo una rata a temperatura estándar SED21/21 alcanzó el criterio de pérdida de peso antes de finalizar el experimento, mientras que dos ratas del grupo a 21° C y dos ratas del grupo a 32° C fueron consideradas intermedias ya su peso no llegó a estabilizarse. Así pues, el porcentaje de ratas Sedentarias que alcanzó el criterio de recuperación fue del 67% para los animales mantenidos a 21° C y del 80 % para los animales sedentarios calentados a 32° C durante la segunda fase.

Con respecto a la ingesta (véase Figura 11), no se observaron diferencias entre los animales Activos y Sedentarios durante la Fase II ya que la ingesta de los animales activos aumentó de manera constante, mientras que la ingesta para los animales sedentarios se estabilizó, $F(1, 36) = 0,167$; $p = .685$. Sin embargo, atendiendo al factor temperatura sí surgieron diferencias en la ingesta para los animales Activos y Sedentarios. El cambio de temperatura redujo la ingesta en los animales Sedentarios a 32° C (SED32/21) en comparación con el grupo Sedentario a temperatura estándar (SED21/21), que continuó incrementando su ingesta gradualmente a lo largo de las dos fases. Al comparar la ingesta durante las primeras 24 horas a temperatura ambiente elevada para el grupo que pasó de 21° a 32° C, se produjo una marcada interacción, esto es, mientras que la temperatura ambiente elevada redujo la ingesta de las ratas Sedentarias, se produjo un incremento en la ingesta de las ratas Activas, $F(1, 18) = 5,17$; $p = .04$. Este patrón en la ingesta se observó también durante el segundo día a temperatura ambiente elevada, tal como revela la interacción significativa para estos tres días (Día -1, Día CPP 20%, Día +1), $F(3, 36) = 5,38$; $p = .009$, sin embargo, esta diferencia desaparece en el Día Final. Sorprendentemente, esta reducción de la ingesta observada en los animales sedentarios a 32° C, no tuvo una repercusión negativa en el peso corporal de estos animales al compararlos con los animales sedentarios mantenidos a 21° C, como se puede apreciar en la Figura 10B.

4. Discusión

Estos resultados muestran cómo la temperatura ambiente elevada puede reducir la actividad en la rueda y promover un incremento en el peso corporal de las ratas, una vez que éstas han perdido el 20% de su peso, incluso aunque se mantengan las condiciones de acceso libre a la rueda de actividad y alimentación restringida. Hasta donde llega el conocimiento actual de los autores, no existen en la literatura informes previos de la reversión en la tendencia de la pérdida de peso similar a la que acabamos de presentar en la sección de resultados. Desde 1967, se ha comprobado una y otra vez que la probabilidad de que las ratas sometidas a ABA sobrevivan una vez que han perdido el 20% de su peso corporal, es muy baja, e. g., el peso de los animales continúa disminuyendo a menos que éstos sean retirados de las condiciones experimentales (Gutiérrez et al., 2002; Routtenberg y Kuznesof, 1967). Así pues, el criterio de recuperación debe entenderse en términos de reversión de la tendencia a perder peso bajo unas condiciones experimentales casi incompatibles con la vida. Obviamente, los animales que alcanzaron el criterio de recuperación no lograron volver al peso de partida en este corto periodo de tiempo. Los animales fueron retirados del experimento una vez que alcanzaron dicho criterio de recuperación para evitar el sufrimiento innecesario. Probablemente, este efecto modulador de la temperatura ambiente sobre el procedimiento ABA, ha sido pasado por alto debido a que la temperatura ambiente ha sido un área de investigación en ABA descuidada hasta la publicación de Gutiérrez et al., 2002.

También es interesante apuntar que el calor inhibe la ingesta en los animales sedentarios a 32° C, en comparación con los animales sedentarios mantenidos a 21° C. Sin embargo, a pesar de esta reducida ingesta, el peso corporal de los animales a 32° C fue similar al de los animales sedentarios a temperatura estándar de 21° C. Este resultado es consistente con los hallazgos realizados previamente con ratas hembra de diferente raza (Wistar hooded) (Gutiérrez, et al., 2006, Experimento 3). En este estudio, una vez que las ratas habían perdido el 20% de su peso corporal inicial se les negaba el acceso a la

rueda de actividad. Para las ratas mantenidas a temperatura estándar (21° C), esta medida no impidió que los animales siguiesen perdiendo peso y tuviesen que ser retirados del experimento. Por el contrario, elevar la temperatura a 29,5° C redujo la de pérdida de peso e incluso permitió la recuperación de los animales, aunque estos animales comieron menos que los animales mantenidos a 22° C. Una posible explicación para estos resultados reside en el efecto amortiguador de la temperatura ambiente elevada sobre las demandas metabólicas para mantener la temperatura corporal en los animales sedentarios, de tal modo que el ahorro energético les permitiría mantener su peso corporal a pesar de su reducida ingesta.

En cambio, la temperatura ambiente elevada no tuvo este impacto negativo en la ingesta de los animales activos (véase Figura 11). Además, todas las ratas Activas calentadas ganaron peso y se recuperaron (Figura 10B), aspecto que probablemente está relacionado con una reducción en el gasto energético, debido al descenso producido en la actividad (Figura 10A). Este efecto del calor sobre las ratas Activas y Sedentarias nos invita a considerar las posibles repercusiones de estos resultados para el proceso de realimentación en el tratamiento de pacientes con AN. Así pues, desde una perspectiva translacional, administrar calor a las pacientes con AN: (a) podría ayudar al manejo de la hiperactividad (Gutiérrez y Vázquez, 2001), cuyo poder es intrínsecamente reforzante para las pacientes (Schebendach et al., 2007) y supone una amenaza a la recuperación del peso; y (b) permitiría el uso de una baja suplementación calórica durante la realimentación, sin que esto afectase negativamente a la ganancia de peso, y al mismo tiempo, reduce los efectos secundarios, psicológicos y hormonales relacionados con el efecto térmico incrementado producido por la comida, y sus incómodas consecuencias para las pacientes desnutridas (Moukkaden et al., 1997; Rigaud et al., 2007; Russell et al., 1998).

Sin embargo, este estudio presenta algunas limitaciones que deben ser abordadas. Primero, aunque: *“substantial homology exists across mammalian species in the functional organization of the weight regulatory system across mammals”* (Schwartz, Woods, Porte, Seeley y Baskin, 2000, p. 661), ABA

es un modelo pobre a la hora de explicar los procesos cognitivos implicados en la supuestamente voluntaria restricción de alimento de la anorexia nerviosa, procesos principalmente controlados por áreas cerebrales implicadas en la cognición, especialmente por la corteza prefrontal derecha. No obstante, el incremento de actividad en las ratas activas fue voluntario, y su ingesta de comida reducida con respecto a las ratas sedentarias (compárese la ingesta de las ratas activas vs. las ratas sedentarias durante la Fase I en la Figura 11) no fue impuesta por las condiciones experimentales. Así que, el prefijo “auto”, en el término “auto-inanición”, ha sido empleado de manera equívoca para describir la ingesta reducida en la rata, ya que no obedece a una decisión voluntaria. Asimismo, cuando el término “auto-inanición” se aplica a humanos se presupone que la restricción de alimento es “intencionada”, lo cual podría ser engañoso ya que el origen de este comportamiento podría estar más allá del control voluntario de las pacientes. Otro aspecto a destacar, es que una vez retiradas de las condiciones experimentales y proporcionado el acceso ilimitado a la comida, las ratas se recuperan. Además, si el acceso a la rueda de actividad se combina con ingesta ad libitum las ratas tan sólo manifiestan una pérdida de peso transitoria (Dixon et al., 2003; Lattanzio y Eikelboom, 2003), mientras que la auto-inanición de las pacientes se produce en el contexto de abundancia de comida.

Una segunda limitación del estudio, es que no se aclara cual es el mecanismo de acción a través del cual una manipulación experimental tan sencilla como incrementar la temperatura ambiente, produjo en las ratas los cambios comportamentales descritos previamente. Sin embargo, estos hallazgos invitan a especular sobre el papel de la temperatura corporal en el proceso de deterioro y recuperación del procedimiento ABA. Las ratas sometidas al procedimiento ABA se vuelven hipotérmicas a medida que la pérdida de peso avanza, debido al incremento de la actividad física y una ingesta de comida insuficiente; y, aunque los picos de actividad incrementan la temperatura corporal, a largo plazo la actividad en la rueda acelera aun más la pérdida de peso (Gutiérrez et al., 2002). Sin embargo, si la rata tiene la posibilidad de obtener calor mediante una fuente de calentamiento, muestra un comportamiento termoregulatorio diferente, ya que prefiere quedarse sobre una

placa caliente en lugar de correr en la rueda, y, de esta manera no se vuelven hipotérmicas (Hillebrand et al., 2005d). Además, este incremento de la temperatura corporal también ha sido observado al administrar ciertos tratamientos que aumentan la supervivencia en ABA, como pueden ser la olanzapina (Hillebrand et al., 2005c) y la proteína AgRP, un antagonista endógeno del sistema de melanocortinas (MC) (Hillebrand et al., 2006b; Kas et al., 2000). Otro agente farmacológico que también previene la hipotermia en las ratas es la leptina, sin embargo también suprime la ingesta, agravando así la pérdida de peso e imposibilitando la supervivencia de los animales (Hillebrand et al., 2005c).

A pesar de los esfuerzos realizados por encontrar un péptido o una hormona capaz de recuperar a los animales de ABA, la investigación realizada hasta la fecha ha sido infructuosa, debido a la naturaleza integrada y no lineal de los neurocircuitos implicados en la homeostasis energética (Schwartz, et al., 2000). Un ejemplo de la complejidad y la naturaleza redundante de los circuitos neurales que controlan la ingesta y la homeostasis energética, ha sido descrito en una publicación reciente donde se trató a las ratas con un potente péptido orexígeno, el neuropéptido Y, el cual en vez de ayudar a las ratas a recuperarse, aumentó su actividad en la rueda y redujo su ingesta agravando así la pérdida de peso (Nergardh, Ammar, Brodin, Bergström, Scheurink y Södersten, 2007).

En este contexto, los efectos beneficiosos de la administración de calor a ratas sometidas al procedimiento ABA, tanto para prevenir como para revertir su desarrollo, superan los efectos obtenidos por otros tratamientos como la fluoxetina (Altemus et al., 1996) y el antipsicótico olanzapina (Hillebrand et al., 2005a), que han fracasado en mejorar el tratamiento para el trastorno en humanos (Bambrilla, Monteleone y Maj 2007; Dunican y Del Dotto, 2007; Walsh et al., 2006).

Otros agentes farmacológicos, como el AgRP y la leptina, todavía no han sido probados en pacientes. Sin embargo, en el caso de la leptina, su utilidad como potencial agente terapéutico no está libre de inconvenientes (Hebebrand,

et al., 2007), debido a su impacto negativo sobre la ingesta. Aunque en nuestro estudio no hemos medido la temperatura corporal, los resultados concuerdan con la hipótesis de que la temperatura corporal es un parámetro importante en ABA, de ahí que en futuras líneas de investigación y de tratamiento se debería prestar mayor atención al aspecto de la hipotermia en la AN.

El desarrollo de modelos animales pertinentes está en línea con los acercamientos translacionales, diseñados para mejorar la comprensión de los mecanismos que subyacen a la AN (Klein y Walsh, 2005). En este contexto, la utilidad de los modelos animales no es tanto una cuestión de analogía u homología, sino un medio de generar nuevas hipótesis y de mejorar los tratamientos (Shapiro, 2004). En este sentido, el presente estudio se esfuerza por rellenar el vacío que existe desde la primera recomendación de aplicación de calor externo a las pacientes realizada por Gull en 1873, en el artículo en que se acuñó el término de AN (Gull, 1873). De modo interesante, esta recomendación estuvo basada en los estudios animales llevados a cabo por el médico suizo Chossat (Chossat, 1835). Sin embargo, aunque William Gull identificó el ejercicio físico excesivo como un signo relevante del trastorno, su recomendación de aplicar calor externo a las pacientes no estaba dirigida a minimizar este signo. Esta conexión se estableció por primera vez en un artículo, en el que se informó de tres maneras diferentes de proporcionar calor como una estrategia específica para ayudar a las pacientes a controlar la actividad física excesiva (Gutiérrez y Vázquez, 2001).

Aunque sería prematuro sacar conclusiones sólidas de los resultados de nuestro estudio, no hay duda de que éstos destacan la necesidad de investigaciones futuras y ofrecen nuevos caminos para el empleo del calor como tratamiento adjunto en la AN (Bergh, Brodin, Lindbergh y Södersten, 2002; Birmingham, Gutiérrez, Jonat y Beumont, 2004; Gutiérrez y Vázquez, 2001).

CAPÍTULO 4

Replicación en hembras del efecto de reversión del calor en el modelo ABA⁴⁷

⁴⁷ Parte de este capítulo forma parte del artículo: *"Heat makes a difference in Activity-based Anorexia: A translational approach to treatment development in Anorexia Nervosa"*, sometido al International Journal of eating Disorders.

1. Introducción

Como ya hemos mostrado en el capítulo anterior, el calor además de prevenir el desarrollo de la hiperactividad y la pérdida de peso (Hillebrand et al., 2005d; Gutiérrez et al., 2006), revierte estas características una vez que ya han superado un nivel crítico, donde la recuperación espontánea de los animales es casi imposible (Gutiérrez et al., 2006). En el capítulo 3 se ha mostrado, en una muestra de ratas macho, que la manipulación de la temperatura ambiental (TA), tras una pérdida de peso del 20% respecto al peso inicial, tiene una consecuencia directa en la supervivencia de los animales. Los resultados muestran que mientras el 100% de las ratas que fueron cambiadas a una temperatura ambiente elevada (32° C) alcanzaron el criterio de recuperación, todos los animales, excepto uno, mantenidos a temperatura ambiente estándar (21° C), tuvieron que ser retirados del experimento ya que continuaron perdiendo peso hasta alcanzar el criterio de retirada (Gutiérrez et al., 2008).

No obstante, estos resultados sólo se han descrito para ratas macho, por lo que sería necesario replicar este efecto en ratas hembra, lo que establecería una condición mínima de partida para cualquier intento de extrapolación del efecto modulador de la temperatura, tanto en hombres como en mujeres. La réplica con ratas hembra es importante por dos razones:

En primer lugar, porque es conocido el hecho de que el género es un factor decisivo en la modulación de balance energético, y más aun cuando están implicados el ejercicio físico y la restricción de ingesta, ya que las hembras están más protegidas para soportar un déficit energético, presentando una mayor capacidad para mantener el peso corporal y para utilizar los sustratos energéticos (Horton y Braun, 2004; Hoyenga y Hoyenga, 1982). Esto es coherente con lo que ocurre en la investigación con el modelo ABA, donde las ratas macho pierden peso más rápidamente que las ratas hembra, más preparadas para compensar el gasto energético asociado a la carrera (Carrera, et al., en prensa) ya que tardan un par de días más que los machos en

alcanzar el criterio de retirada habitualmente empleado en experimentación ABA.

En segundo lugar, la mayor incidencia de anorexia nerviosa entre las mujeres (una proporción de diez a uno respecto a los hombres) (Striegel-Moore y Bulik, 2007) hace pertinente que se lleve a cabo una replicación en hembras.

2. Método

2.1. Sujetos

Cuarenta y ocho ratas hembra Sprague-Dawley que aproximadamente tenían una semana más de edad que los machos del capítulo 3, para igualar ambos grupos en la variable peso (con un rango de 164 - 213 g), fueron adquiridas del Animalario Central de la Universidad de Santiago de Compostela (USC), siguiendo el mismo protocolo de estabulación que en el capítulo anterior. Al igual que en el estudio mencionado anteriormente, el comité ético del uso y cuidado de los animales de la Universidad de Santiago de Compostela aprobó todos los procedimientos descritos.

2.2. Aparatos

Para la realización del presente estudio se utilizaron los mismos aparatos que en el capítulo 3, en el que se presentan los datos referidos al estudio con ratas macho.

2.3. Procedimiento

Las ratas fueron encargadas de forma sucesiva en tres tandas de 16 animales de cada vez y se asignaron mediante una asignación aleatoria por bloques (constituidos por peso) a dos grupos diferentes, un grupo de animales Activos ($n = 24$, Media \pm SD, $196,17 \pm 3,14$ g), y un grupo de animales Sedentarios ($n = 24$, Media \pm SD, $194,39 \pm 3,04$ g), como se muestra en la

Figura 12. Ya que el estudio supone un intento de replicación de los resultados que acabamos de presentar para los machos, el procedimiento fue idéntico al que describimos en el capítulo 3, diferenciándose también dos fases experimentales. Una primera fase que se inició con el procedimiento ABA (Día 0) para ambos grupos (Activo y Sedentario), y una segunda fase que comenzó el día que alcanzaron el CPP 20%, después del periodo de alimentación (14:30 h), con una nueva asignación de las ratas, a uno de dos grupos: un grupo Activo a temperatura elevada (AC21/32; $n = 9$), o a un grupo Activo a temperatura estándar (AC21/21; $n = 9$). Al igual que en el capítulo 3, estas condiciones se mantuvieron hasta que las ratas alcanzaron el criterio de recuperación o un criterio de retirada, que en este caso se extendió a un periodo de dos días consecutivos con un peso corporal inferior al 75% del peso corporal respecto al Día 0, atendiendo a la mayor resistencia de las hembras (Carrera et al., en prensa). Este criterio de retirada para las ratas hembra se suele utilizar en la literatura, como por ejemplo en los experimentos 3 y 4 reportados en el artículo de Gutiérrez et al., 2006. Finalmente la duración total de experimento se extendió durante dos semanas.

2.4. Análisis estadístico

Se analizaron cinco variables dependientes: peso, ingesta, vueltas en la rueda, los días que tardaron en alcanzar el CPP 20% y el hecho de haber alcanzado el criterio de retirada o de recuperación.

El peso, la ingesta y la actividad en la rueda fueron analizadas mediante un análisis de varianza de medidas repetidas a lo largo de los días, hasta que la primera rata fue retirada (ANOVA), tomando como factores independientes la temperatura ambiente y la condición de actividad (AC vs. SED). Se aplicó una prueba t de Student para evaluar las diferencias que hubo el Día Final. Se empleo un análisis no paramétrico (prueba de Fisher) para evaluar el desempeño en el procedimiento y para evaluar los días que tardaron las ratas en alcanzar los criterios establecidos (U de Mann-Whitney). Se tomó un alfa de .05 para todos los análisis.

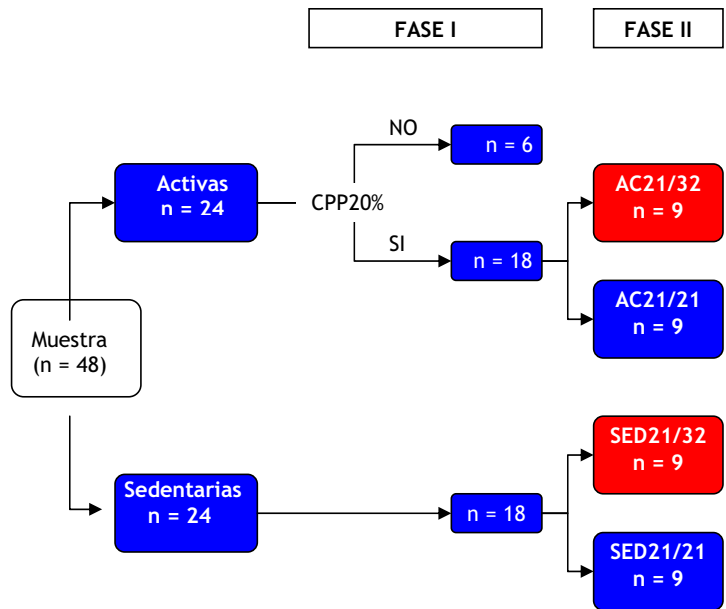


Figura 12. Esquema de muestra y procedimiento. El color de las cajas indica la temperatura a la que estuvieron sometidos los diferentes grupos, así, el azul se corresponde con una temperatura ambiente estándar de 21° C y el rojo con una temperatura ambiente elevada de 32° C.

3. Resultados

Como se muestra en la Figura 12, seis de las 24 ratas activas no lograron alcanzar el criterio de pérdida de peso corporal (CPP 20%) para pasar a la Fase II y fueron descartadas con sus correspondientes ratas del grupo sedentario. Sin embargo, este descarte de animales no creó diferencias entre los grupos, como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Peso corporal (Media \pm SEM) en el Día 0 en función del CPP 20%.

Peso Día 0	Activas	Sedentarias
Asignación Inicial (48 animales)	206 (\pm 2,3) g	205 (\pm 2,2) g
Después de la reducción de la Muestra Inicial (36 animales)	205 (\pm 2,8) g	203 (\pm 2,8) g

El resto de animales que alcanzaron el CPP 20% fueron asignados o bien al grupo a temperatura ambiente elevada (AC21/ 32; $n = 9$), o bien al grupo mantenido a temperatura ambiente estándar (AC21/21; $n = 9$). Estos grupos no difirieron en el número de días en alcanzar el CPP 20%, (Medianas de 5 y 6 días respectivamente para los grupos AC21/32 y AC21/21, U de Mann-Whitney ($9, 9$) = 32; $p = .43$). Los animales Sedentarios uncidos también se dividieron en dos grupos, que experimentaron los mismos cambios de temperatura que los animales Activos. Los datos relativos al peso de los animales asignados a las cuatro condiciones operativas en la Fase II, se muestran en la Tabla 7.

De acuerdo con la estrategia adoptada en el capítulo 3, presentaremos los resultados de la primera fase, desde el Día 0 hasta el Día CPP 20%, periodo durante el cual todos los animales estaban alojados a una temperatura ambiente estándar de 21° C. No obstante, teniendo en cuenta que durante la Fase II los grupos se dividen en otras dos condiciones, las Tablas y Figuras que muestran los datos de la Fase I se realizarán teniendo en cuenta la asignación final de los animales durante la Fase II.

3.1. Fase I

La Figura 13 muestra el nivel de actividad de los animales Activos, es decir la distancia recorrida por las ratas durante las 22,5 horas que tenían acceso a la rueda. Debido a que el CPP 20% se evaluaba para cada animal, independientemente de la evolución del resto de los animales, cada animal podía alcanzar ese criterio en un día diferente. De hecho los animales alcanzaron el CPP 20% en un rango de 5 a 8 días. Como los primeros animales en alcanzar el CPP 20% lo hicieron en 5 días, en la abscisa de la gráfica presentamos únicamente los cinco días hasta alcanzar ese criterio en todos los animales, de modo que los valores que se representan en las figuras siempre son los valores para todo el grupo. Por lo tanto, los cinco puntos que se presentan en el eje de abscisas de la Figura 13, se corresponden con los siguientes días: Día -4, Día -3, Día -2, Día -1 y Día CPP 20%.

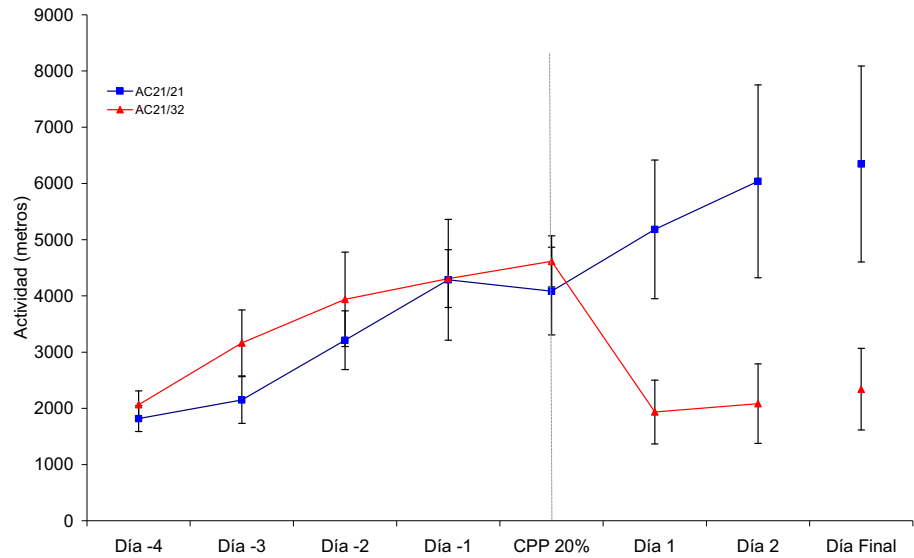


Figura 13. Media \pm SEM de la actividad en la rueda (vueltas \times 1,1 m) para los dos grupos Activos. Se representan los días previos y posteriores a alcanzar el CPP 20%, además del Día Final del experimento. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para el grupo AC21/32.

Como se muestra en la Figura 13, la distancia recorrida por los animales aumentó de manera constante, desde el primer día que tuvieron acceso a la rueda, hasta el Día CPP 20%, en el que alcanzaron el criterio para el cambio de fase (dos primeras filas de la Tabla 6), siendo el mayor incremento registrado de 2904 metros a 8670 metros y el menor de 793 metros a 1536 metros. Este aumento progresivo del nivel de actividad fue similar en ambos grupos, sin que se observaran diferencias significativas entre ellos, $F(1, 16) = 0,45$; $p = .50$. Tampoco se observaron diferencias entre ambos grupos en la actividad media durante esta fase, $t(16) = 0,8$; $p = .43$, *ns*.

Tabla 6. Media \pm SEM de la actividad en la rueda de los animales durante la Fase I (Día 1-CPP20%).

	AC 21/21	AC21/32
Actividad Día 1	1652 (\pm 229,5) m	1876 (\pm 246,1) m
Actividad Día CPP 20%	3713,6 (\pm 779,3) m	4195,6 (\pm 454,4) m
Actividad media	2589 (\pm 495,6) m	3128 (\pm 454,9) m

Por lo que respecta al peso, como se refleja en la Tabla 7, durante esta fase los animales Activos perdieron más peso que los Sedentarios, y así lo demuestra la interacción significativa entre ambos grupos y la tendencia F (4, 136) = 23,86; $p < .001$. Sin embargo, aunque los animales Activos perdieron peso más rápidamente que los animales Sedentarios (véase segunda y cuarta columna de la Tabla 7), no hubo diferencias entre los grupos Activos AC21/32 y AC21/21, ni entre los grupos Sedentarios: SED21/32 y SED21/21 (todas las $ps > .05$). La Figura 14, muestra la evolución del peso corporal de los cuatro grupos en la Fase I.

Tabla 7. Peso corporal medio (\pm SEM) a lo largo de la Fase I.

Día 0			Día CCP 20%	
AC 21/21	205 (\pm 2,8) g	208,8 (\pm 4,7) g	162 (\pm 2,3) g	165 (\pm 3,7) g
AC21/32		200,8 (\pm 2,7) g		159 (\pm 2,2) g
SED21/21	203 (\pm 2,8) g	204 (\pm 5,3) g	173,5 (\pm 3,2) g	175 (\pm 5,8) g
SED21/32		202,3 (\pm 2,3) g		172 (\pm 2,8) g

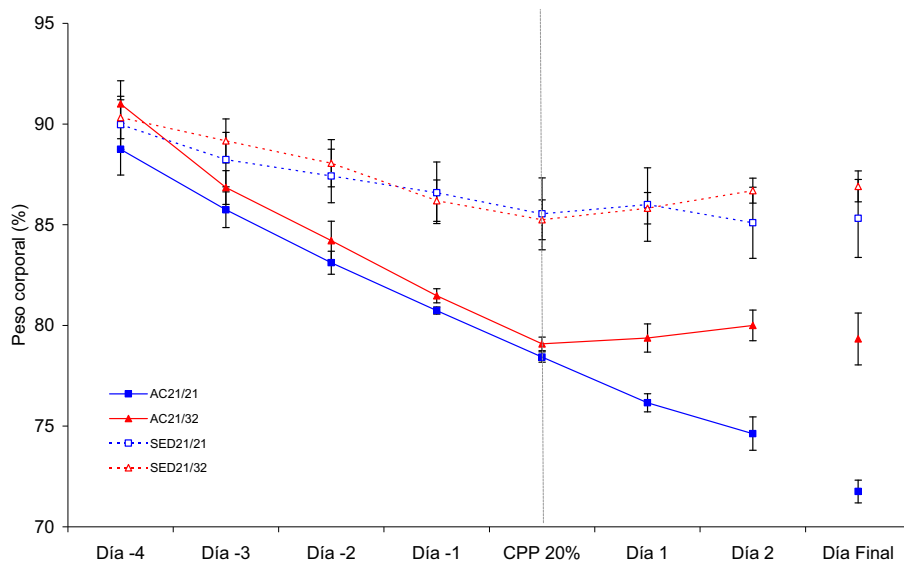


Figura 14. Media \pm SEM del peso corporal relativo al peso en el Día 0. Se representan los días previos y posteriores a alcanzar el CPP 20%, además del Día Final del experimento. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos AC21/32 y SED21/32.

Con respecto a la ingesta, como se observa en la primera fila de la Tabla 8, el inicio de la Fase I, con la restricción de comida de 1,5 h/día, supuso una reducción drástica de la ingesta de los animales. Esta reducción fue superior para los animales que tuvieron acceso a la rueda durante las 22,5 horas anteriores, como se refleja en la Tabla 8. En esa misma Tabla también se puede observar como la ingesta tanto para el Día 1, como para el día CPP 20%, así como la media de la ingesta durante toda esta Fase I, es significativamente superior para las ratas Sedentarias (todas las $t < .05$). Un ANOVA realizado a lo largo de los días en los que había datos para todas las ratas, que son los mostrados en la abscisa de la Figura 15, mostró que la ingesta fue menor para las ratas Activas tal y como ocurrió en experimentos anteriores, $F(1, 34) = 4,40$; $p = .04$, sin embargo, no hubo una interacción significativa, $F(4, 136) = 0,497$; $p = .69$. Por otra parte, en esta fase no hubo diferencias en la ingesta de comida ni entre los animales Activos (AC21/32 y AC21/21), ni entre los Sedentarios (SED21/32 y SED21/21), $F_s < 1$.

Tabla 8. Media \pm SEM de ingesta durante la Fase I

	ACTIVAS		SEDENTARIAS		<i>t Student</i>
	AC 21/21	AC21/32	SED21 /21	SED21/32	
Ingesta	17,56 (\pm 0,6) g		17,25 (\pm 0,9)		$t(34) = 0,27$ $p = .78$
Día 0	18,7 (\pm 0,6) g	16,4 (\pm 1,1) g	16,5 (\pm 1,6) g	18 (\pm 1,1) g	
Ingesta	3,3 (\pm 0,3) g		4,8 (\pm 0,6) g		$t(34) = -2,08$ $p = .047$
Día 1	3,2 (\pm 0,5) g	3,5 (\pm 0,5) g	4,4 (\pm 0,9) g	5,4 (\pm 0,9) g	
Ingesta	7,2 (\pm 0,4) g		8,6 (\pm 0,4) g		$t(34) = -2,32$ $p = .026$
Día CPP 20%	7,4 (\pm 0,5) g	7,1 (\pm 0,7) g	8,7 (\pm 0,9) g	8,6 (\pm 0,5) g	
Ingesta	5,7 (\pm 0,3) g		6,9 (\pm 0,3) g		$t(34) = -2,18$ $p = .036$
media Fase I	5,3 (\pm 0,4) g	5,5 (\pm 0,4) g	6,8 (\pm 0,8) g	6,3 (\pm 0,3) g	

3.2. Fase II

Una vez que las ratas Activas alcanzaron el CPP 20% fueron asignadas a las dos temperaturas ambientales de 21° C (AC21/21) o de 32° C (AC21/32), hasta que los animales cumplieron el criterio de retirada o el de recuperación (Día Final). Asimismo, el mismo número de animales Sedentarios, uncidos al grupo Activo, fueron asignados a una u otra temperatura (SED21/21 vs. SED21/32), según les correspondiese. Para esta segunda fase, sólo se representaron tres puntos en el eje de abscisas, ya que tres de las ratas del grupo AC21/21 cumplieron el criterio de retirada tres días después de comenzar esta segunda fase, y una de las ratas del grupo AC21/32 se recuperó al tercer día. De esta manera se debe entender que aunque para estas cuatro ratas el punto correspondiente al Día Final en efecto es el tercer día de la Fase II, para el resto de los animales existe una discontinuidad entre el Día 2 y el Día Final, entre los cuales pudieron transcurrir varios días.

En cuanto al nivel de actividad en la rueda, las ratas mantenidas a una temperatura estándar de 21° C (AC21/21) aumentaron progresivamente su carrera respecto la Fase I, mientras que los animales calentados a 32° C (AC21/32) redujeron a la mitad su nivel de actividad respecto a la primera fase (véase Tabla 6 y Tabla 9). La actividad acumulativa de los animales AC21/21 durante la Fase II superó en un 30% la actividad de los animales calentados, a pesar de que si tenemos en cuenta la actividad de todos los animales a lo largo de todos los días en el experimento, los animales del grupo AC21/32 se mantuvieron en el estudio 38 días, 11 más que los 27 días en los que hubo actividad en el grupo AC21/21, hasta que se retiró a la última rata. Este efecto de la temperatura ambiental también se puede observar en los máximos y mínimos de actividad marcados por cualquier rata a lo largo de la Fase II. Finalmente, un ANOVA de medidas repetidas reveló que en los tres primeros días de la Fase II (CPP 20%, Día 1 y Día 2) las ratas mantenidas a 21° C corrieron más que los animales calentados a 32° C, $F(2, 32) = 11,38$; $p < .001$. Como se ilustra en la Figura 13, el Día Final, los animales AC21/21 triplicaron la media de actividad de los animales AC21/32, $t(16) = 2,1$; $p = .05$.

Tabla 9. Distancia en metros recorrida durante la Fase II (desde el Día CPP 20% al Día Final).

	AC21/21	AC21/32
Actividad media	4759 (\pm 712,8) m	2696 (\pm 419,4) m
Actividad acumulada	128504 m	99736 m
Actividad máxima	16809 m	9181 m
Actividad mínima	1739 m	146 m

Con respecto al peso, como se observa en la Figura 14, las ratas que se mantuvieron a la misma temperatura (AC21/21) continuaron perdiendo peso progresivamente, y como confirma el efecto de interacción del ANOVA de medidas repetidas para el Día CPP 20%, el Día 1 y el Día 2 el peso corporal de los animales AC21/32 fue superior al de los animales del grupo AC21/21, $F(2, 32) = 21,8$; $p < .001$. Además, esta diferencia fue en aumento a lo largo de los días, $F(2, 32) = 9,18$; $p = .001$, resultando significativa también para el Día Final, $t(16) = 1,7$; $p = .05$. Con respecto a los animales Sedentarios, aunque no hubo diferencias a nivel global entre los dos grupos, si hubo una interacción significativa $F(2, 32) = 4,5$; $p = .02$, ya que el peso de las ratas Sedentarias calentadas a 32° C (SED21/32) tendió a incrementarse a lo largo de los días, mientras que el peso del grupo SED21/32 se mantuvo estable.

Como consecuencia de los cambios de peso referidos, todos los animales del grupo de AC21/21 tuvieron que ser retirados del experimento al perder el 25% del peso corporal respecto al Día 0 (Mediana de 4 días, rango de 3 - 5 días). En cambio todos los animales Activos calentados (AC21/32) ganaron peso y el 100% alcanzaron el criterio de recuperación, por el cual se considera que las ratas han empezado a recuperar el peso corporal, (Mediana de 4 días, rango de 3 a 7 días). Esta diferencia entre los porcentajes de recuperación es la más extrema posible, prueba de Fisher, $p < .0001$. En lo que se refiere a los grupos sedentarios ninguno de los animales alcanzó el criterio de retirada.

Con respecto a la ingesta, como se muestra en la Figura 15, no se observaron diferencias significativas ni para los grupos Activos, $F(1, 16) = 0,023$; $p = .88$, ni para los animales Sedentarios, $F(1, 16) = 0,90$; $p = .768$.

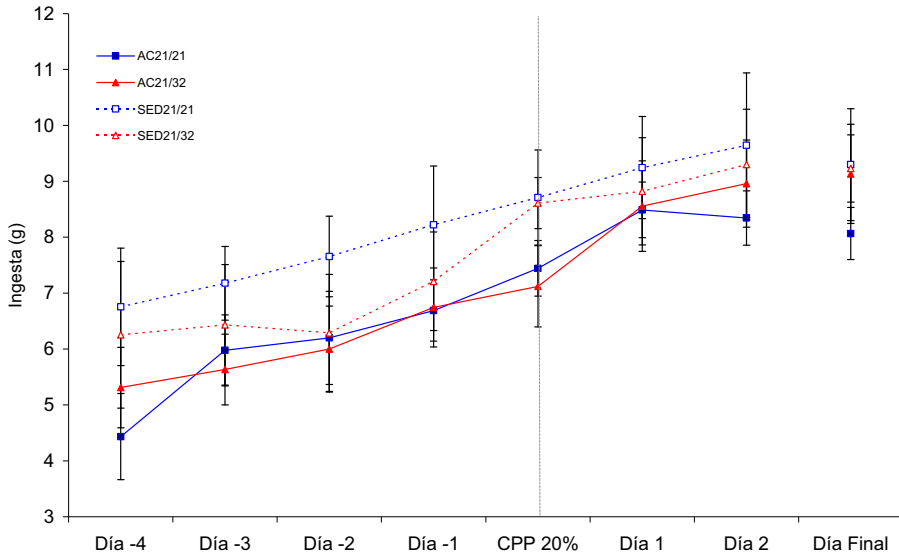


Figura 15. Media \pm SEM de la ingesta en gramos. Se representan los días previos y posteriores a alcanzar el CPP 20%, además del Día Final del experimento. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiente se elevó a 32° C para los grupos AC21/32 y SED21/32.

Sin embargo, el grupo alojado a 32° C durante esta Fase II (AC21/32), el Día Final aumentó su ingesta casi un 30% respecto a la ingesta realizada el Día CPP 20%⁴⁸ (de 7,1 a 9,1 g), una diferencia que, como reveló una t de Student para muestras relacionadas, fue significativa, $t(8) = 2,7$; $p = .02$, y que fue el mayor incremento de la ingesta en todos los grupos desde el Día CPP 20% al Día Final de la Fase II, como se muestra en la Tabla 10.

⁴⁸ Una diferencia importante respecto al estudio que presentamos en el capítulo 3, es que la ingesta registrada para los animales AC21/32 y SED21/32 el Día CPP 20% tuvo lugar a una temperatura ambiente estándar, por lo que en este caso el Día CPP 20% pertenece a la primera fase.

Tabla 10. Media \pm SEM de la ingesta de los animales el Día CPP 20%, a lo largo de la Fase II y el Día Final.

	AC 21/21	AC21/32	SED21 /21	SED21/32
Ingesta el Día CPP 20%	7,4 (\pm 0,5) g	7,1 (\pm 0,7) g	8,7 (\pm 0,9)g	8,6 (\pm 0,5) g
Ingesta el Día Final	8,1 (\pm 0,5) g	9,1 (\pm 0,9) g	9,3 (\pm 1) g	9,2 (\pm 0,6) g
Ingesta media para la Fase II	8,3 (\pm 0,4) g	8,9 (\pm 0,8) g	9,5 (\pm 1,1)g	9,2 (\pm 0,6) g

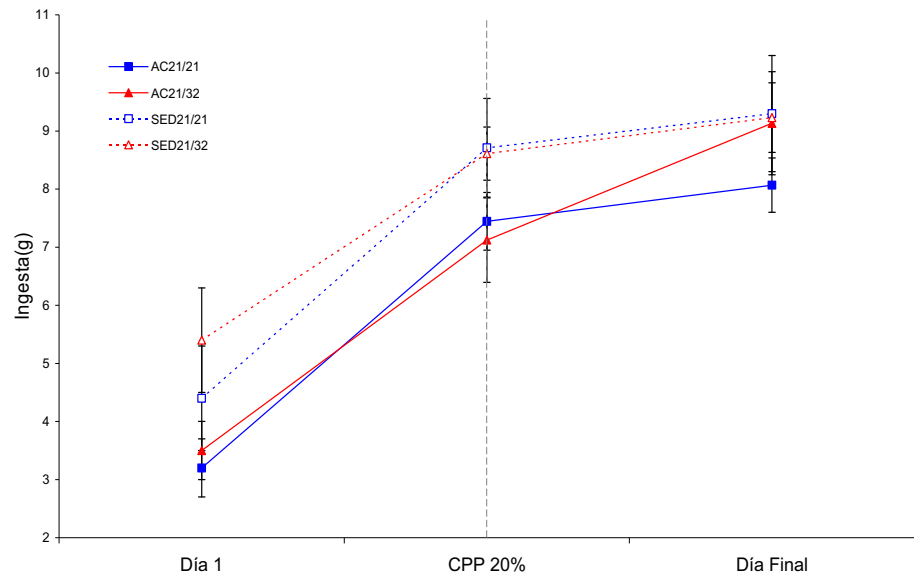


Figura 16. Media \pm SEM de la ingesta en gramos para el Día 1, el Día CPP 20% y el Día Final. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos AC21/32 y SED21/32.

La representación de la Figura 16 muestra la ingesta de los cuatro grupos experimentales para ilustrar este aspecto a lo largo de todo el estudio. El primer punto de la figura se corresponde con la ingesta media de los animales el Día 1, cuando los animales se enfrentan al programa de alimentación restringida de 1,5 horas/día por primera vez; el punto intermedio es la ingesta media en el día en el que se produce el cambio de Fase (CPP20%); y el tercer punto es el Día Final del procedimiento, que representa la ingesta media de los animales en su último día de participación en el

experimento, cuando satisfacían bien el criterio de retirada, o el de recuperación. Como muestra la Figura 15, aunque durante la Fase I todos los grupos tienden a incrementar su ingesta, en la segunda fase el grupo AC21/32 es el único que continúa haciéndolo hasta equiparar su ingesta el Día Final con la ingesta de los grupos sedentarios. Como ya hemos señalado más atrás, la ingesta para el Día Final se incremento significativamente para el grupo calentado.

4. Discusión

Una primera valoración de los resultados de la replicación en hembras muestra que éstos son muy similares a los que se presentaron para los machos (Gutiérrez et al., 2008); elevar la temperatura ambiente significó, tanto para los machos como para las hembras, una reversión de la actividad excesiva y la pérdida de peso, evitando la interferencia que estas dos variables causan sobre la ingesta.

Tomados en conjunto estos resultados nos permiten tener una visión más completa del efecto de la temperatura ambiente en el procedimiento de Anorexia Basada en la Actividad, un efecto pasado por alto durante décadas en la investigación con el modelo ABA (Gutiérrez et al., 2002), debido a razones tan ajenas a la propia investigación como es la comodidad de los investigadores, tal como señalaba recientemente una investigadora:

Historically, the profound impact of ambient temperature on the thermoregulatory capacity of mice and rats has been ignored, with the choice of housing ambient temperature commonly dictated by the comfort of laboratory personnel (typically 20 – 22° C). The housing of rodent species under strict environmental conditions is often compromised due to the high cost of maintaining precise control over ambient variables, such as temperature, humidity and lighting. As a consequence, needs of the particular species or strain under study are secondary, with neglect for the impact of ambient temperature on study outcome (Leon, 2005, p.275).

Este capítulo se introducía señalando que una de las razones para replicar en hembras el efecto de reversión del calor en el modelo ABA, era que el género es un factor decisivo en la modulación del balance energético (Horton y Braun, 2002). Teniendo en cuenta que, desde que se inició el estudio se puso especial cuidado en que el peso de las hembras fuese similar al que tenían los machos y que, desde que llegaron al estabulario hasta que se retiraron del experimento se siguió el mismo protocolo que en el capítulo anterior, haremos algunas comparaciones pertinentes.

En ambos capítulos se siguió la misma estrategia para presentar los resultados; así que comenzaremos examinando los puntos en los que coinciden ambos estudios, ya que tanto en la Fase I como en la Fase II, para machos y hembras, se obtuvieron unos resultados similares.

Para ambos sexos, desde el inicio del procedimiento, la actividad se incrementó de manera constante hasta que alcanzaron el CPP 20%. Además, en contra de lo que se informa frecuentemente en la literatura (Boakes et al., 1999; Carrera, 2007; Lambert y Kimsley, 1993; Tokuyama et al., 1982), las hembras no corrieron más que los machos en el procedimiento ABA. Esto probablemente está relacionado con el efecto que tiene sobre dicho procedimiento, la caja incubadora en la que fueron alojados todos los animales. Este aspecto fue estudiado en profundidad para los machos, en un Trabajo de Investigación Tutelado (Cerrato, 2007) que concluyó señalando que, aunque la caja incubadora no inhibía el efecto del procedimiento ABA, si lo suavizaba reduciendo la actividad.

No obstante, el acceso a la rueda de actividad durante la Fase I provocó que tanto los machos como las hembras perdieran peso mucho más rápidamente que los animales Sedentarios. Esto produjo una interferencia sobre la ingesta, ya que a medida que la actividad en la rueda se incrementó, la ingesta de los animales Activos no fue capaz de equipararse a la de los animales Sedentarios.

Durante la Fase I, tanto machos como hembras mostraron un ritmo de pérdida de peso similar, ya que no hubo diferencias entre machos y hembras en cuanto a los días para alcanzar el criterio de cambio de fase (CPP 20%). Una vez que los animales perdieron el 20% de su peso, comenzó la Fase II, elevándose la temperatura de la caja incubadora para los grupos AC21/32 y SED21/32. En esta fase el efecto de la temperatura ambiente elevada sobre la actividad fue idéntico en machos y en hembras. En ambos casos los grupos a temperatura estándar duplicaron la carrera respecto la Fase I, llegando a triplicar la actividad de los grupos calentados el Día Final. Al igual que ocurrió en la primera fase, en esta fase tampoco hubo diferencias en el nivel de actividad entre machos y hembras.

Sin duda los efectos más importantes de la elevación de la temperatura ambiental tienen que ver con la reversión de la tendencia a perder peso de los animales. Tanto los machos como las hembras a temperatura elevada dejaron de perder peso, algo que es prácticamente imposible de lograr por los animales dejados a sus propios medios, como mostraron los animales a 21° C, que tuvieron que ser retirados en un 95% de los casos (17 de 18 animales). Sin embargo, el 100% de los animales (18 de 18 animales) a los que se elevó la temperatura ambiental después de haber perdido un 20% de peso, alcanzaron un peso mayor o igual que el que tenían cuatro días antes, como requiere el criterio de recuperación.

Es interesante también el comportamiento de las hembras con respecto a la ingesta, ya que como hemos comentado, la temperatura elevada facilitó la ingesta de las ratas Activas. Este aspecto es interesante ya que muestra el doble efecto de la temperatura: disminución de la actividad y elevación de la ingesta. Este efecto significativo con respecto a la ingesta, aunque no pudo obtenerse en los machos, también existe en ellos una tendencia a incrementar la ingesta durante la Fase II, como se muestra en la comparativa de la Figura 17.

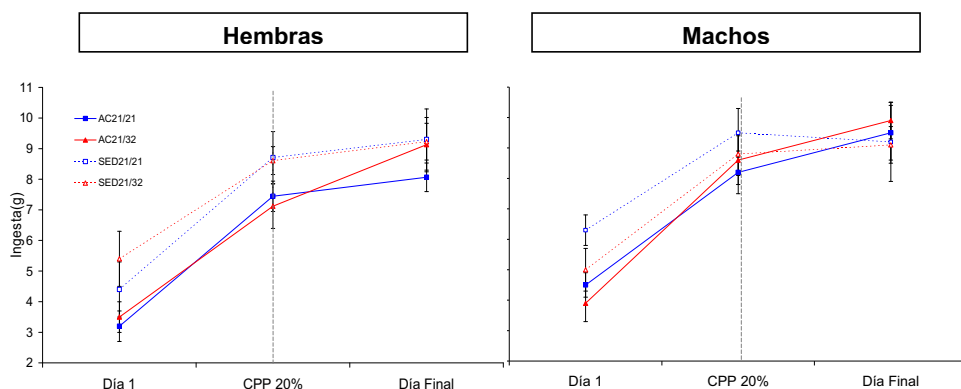


Figura 17. Figura comparativa de la ingesta de machos y hembras

Sin duda, la mayor tendencia de las ratas hembra en general a preservar un nivel elevado de ingesta (Carrera et al., en prensa) ha sido facilitada por la temperatura elevada.

Esta mayor eficiencia de las hembras para preservar la ingesta se evidencia en el hecho de que, a pesar de ser más ligeras que los machos, mantienen unos niveles de ingesta similares a éstos, mucho más robustos. Como señalábamos en el estudio de los machos, hubo una tendencia para los sedentarios: el calor inhibió la ingesta de los animales en comparación con los animales sedentarios mantenidos a 21° C, sin que esta reducción de la ingesta afectara a la tasa de pérdida de peso de los animales. En el caso de las hembras, no se detectó esta tendencia tan marcada en la ingesta de las Sedentarias a 32° C, a pesar de que su peso tendía a ser superior que el de las ratas Sedentarias a temperatura estándar.

Así, globalmente podemos concluir que un ambiente cálido beneficia tanto a los machos como a las hembras, ya que todos los animales calentados se recuperaron y además, en el caso de las hembras activas, la temperatura elevada también facilitó la ingesta.

CAPÍTULO 5

Efecto de la temperatura ambiente
sobre la ingesta y el peso de
las ratas sedentarias

1. Introducción

En los capítulos anteriores hemos visto que, en el modelo ABA elevar la temperatura ambiente a 32° C para las ratas, justo en el límite superior del umbral de la zona termoneutral que va desde los 27° C a los 31° C (Gordon, 1990), invirtió la actividad y preservó la ingesta de los animales, permitiendo la recuperación del peso corporal. Teniendo en cuenta que la anorexia nerviosa es un trastorno refractario al tratamiento y que el modelo ABA es, dentro de los modelos animales, el mejor candidato para desarrollar nuevas líneas de investigación (Casper et al., 2008; Klein y Walsh, 2008), estos resultados representan una fuerte evidencia preclínica de que la administración de calor puede ser un componente adicional y útil en el tratamiento de la anorexia nerviosa.

Además los estudios previos con el modelo ABA, nos han permitido volver a observar un efecto interesante para los grupos sedentarios, que ya había sido observado previamente en una serie de experimentos en colaboración con el Profesor Bob Boakes (Gutiérrez et al., 2006, Experimento 1 y 4). Como se ha descrito en el capítulo 3, el calor provocó una reducción en la ingesta del 20% respecto a los animales sedentarios mantenidos a la temperatura estándar de 21° C (Gutiérrez et al., 2008). En el caso de las hembras, aunque también mostraron esta tendencia, no fue tan marcada (capítulo 4, Cerrato, Carrera, Vázquez, Echevarría y Gutiérrez 2010, sometido). No obstante, pese a esta tendencia de los animales calentados a reducir su ingesta, tanto machos como hembras mantuvieron un peso equivalente al de los grupos sedentarios alojados a 21° C. La reducción de ingesta en ratas con comida *ad libitum* a una temperatura ambiente elevada, es un fenómeno descrito en la literatura desde el trabajo pionero de Brobeck (1948), sin embargo, esta menor ingesta a temperatura elevada todavía no ha sido descrita para ratas con alimentación restringida.

El hecho de que en los capítulos anteriores los grupos sedentarios se incluyeran a modo de grupo control de los animales activos, hizo que los datos

con los que contamos de los grupos sedentarios sean limitados, ya que los estudios concluyeron cuando los animales activos alcanzaron, bien el criterio de retirada o el de recuperación. Esta cuestión metodológica nos impidió observar el efecto que podría tener el calor sobre los animales sedentarios si las condiciones de observación se alargaran en el tiempo. Así pues, éste es el punto de partida del siguiente estudio, que pretende estudiar el efecto del calor en machos y hembras sedentarios sin acceso a la rueda de actividad, tanto en condiciones de alimentación restringida (1,5 h/día), como ad libitum.

Además, para separar los efectos de la temperatura ambiental de la ingesta que realizaron los animales durante el período de alimentación restringida, se incluyó un grupo de control pair-feed y un grupo con alimentación ad libitum. De este modo, el estudio es un diseño factorial 2 x 3, con dos niveles de temperatura ambiente: Elevada (TA32) y Estándar (TA21), y tres tipos de régimen de alimentación: restringida a 1,5 h/día (RF), pair-feed (PF) y ad libitum (AL), según se representa en la Figura 18.

Los resultados de este estudio pueden darnos una idea más general del efecto del calor sobre la ingesta y el peso corporal. Además, los resultados pueden ser interesantes en sí mismos a la hora de entender los posibles efectos del calor sobre el segmento de pacientes con anorexia que no muestran hiperactividad (Casper, 2006).

2. Método

2.1. Sujetos

Para este estudio se utilizaron 46 ratas hembra y 50 ratas macho Sprague-Dawley, adquiridas del Animalario Central de la Universidad de Santiago de Compostela (USC) cuando tenían en torno a seis semanas de edad, con un rango de peso de 161 - 201 g las hembras y de 206 - 243 g los machos. Al igual que el manejo dado a los animales utilizados en los otros estudios, las ratas fueron alojadas durante cuatro días en el estabulario, con

comida y agua ad libitum, siendo el ciclo de luz-oscuridad de doce horas, de 8:00 a 20:00 h. La temperatura ambiente se estableció en 21° C. Las ratas del estabulario fueron manipuladas y pesadas a diario (9:30 h - 10:30 h). El comité ético del uso y cuidado de los animales de la Universidad de Santiago de Compostela aprobó todos los procedimientos descritos siguiendo el mismo protocolo que en los estudios anteriores. Dadas las restricciones de espacio en el laboratorio, los animales fueron adquiridos en seis tandas sucesivas de dieciséis animales cada una.

Primero se llevó a cabo el estudio con alimentación restringida (cuatro tandas) y posteriormente se llevó a cabo el estudio de los grupos con alimentación ad libitum (dos tandas). En ambos casos se adquirieron en primer lugar las tandas de animales correspondientes a las hembras (Media \pm SEM, 201 \pm 1 g), luego las tandas de machos (Media \pm SEM, 251 \pm 2 g) para los estudios de alimentación restringida, y a continuación las hembras (Media \pm SEM, 202 \pm 1,5 g) y machos (Media \pm SEM, 246 \pm 2,3 g) estudiados con alimentación ad libitum.

2.2. Aparatos

Para la realización del presente estudio se utilizaron los mismos aparatos que para los animales sedentarios de los capítulos anteriores.

2.3. Procedimiento

Al cuarto día después de su llegada al estabulario, para el estudio con alimentación restringida, tanto para machos como para hembras, se constituyeron dos grupos: **Grupo A** (Media \pm SEM, 201,6 \pm 1,3 g, Media \pm SEM, 250,7 \pm 3,07 g, para hembras y machos respectivamente) y **Grupo B** (Media \pm SEM, 199,6 \pm 1,5, Media \pm SEM, 252,5 \pm 3,07, para hembras y machos respectivamente). Los animales fueron asignados aleatoriamente a esos grupos por bloques una vez estratificada la muestra con respecto al peso. Realizada la asignación a los Grupos **A** o **B**, las ratas del Grupo **A**

permanecieron en sus cajas durante dos días, tal y como se ha descrito en los capítulos anteriores para las ratas sedentarias. Las ratas del Grupo **B**, que funcionarán durante la Fase II como un grupo pair-feed, se incorporaron al experimento 24 horas más tarde que los animales del Grupo **A**.

Para el Grupo **A**, el experimento propiamente dicho comenzó al tercer día con la retirada de la comida a las 14:30 horas (Día 0). Con el objeto de reproducir condiciones similares a los grupos sedentarios utilizados en Gutiérrez et al. (2008) y Cerrato et al. (2010, sometido), el estudio incluía una primera fase (Fase I) de una semana de duración, durante la cual los animales del ambos grupos (**A** y **B**) se encontraban sometidos a restricción de comida (RF⁴⁹, 13:00 - 14:30 h) con la TA a 21° C.

Una vez transcurrida la primera semana, la Fase II comenzó con la asignación aleatoria de los animales de ambos grupos A y B, a una de dos condiciones de temperatura ambiental: TA 21° C o TA 32° C. Los animales provenientes del Grupo A (TA21-RF y TA32-RF), se mantuvieron en el mismo programa de alimentación restringida de 1,5 h/día (13:00 - 14:30 h). Por su parte, los animales del grupo B recibieron la cantidad de comida consumida el día anterior por los animales de la condición restringida (grupo A), pero alojados a diferente TA. De este modo, el grupo alojado a 21° C (TA21-PF32) recibió la cantidad de comida (media del grupo) ingerida por el grupo TA32-RF, en cambio el grupo a 32° C (TA32-PF21), recibió la cantidad de comida ingerida por el grupo TA21-RF. Esta Fase II para los cuatro grupos (TA21-RF, TA32-RF, TA21-PF32 y TA32-PF21) se mantuvo durante dos semanas.

Una vez finalizada la Fase II, se procedió a realizar un nuevo estudio con machos y hembras con alimentación ad libitum, en el que se siguió la misma estructura en fases que en el estudio anterior, una primera fase a temperatura ambiente estándar (21° C) y una segunda fase de 14 días, en la que también se manejaron dos condiciones de temperatura. En ambos casos la mitad de los animales fueron asignados a una temperatura ambiente elevada (TA32-AL) y la

⁴⁹ Ya que los tipos de régimen Ad libitum (AL) y Pair-feed (PF) no se han traducido al castellano, las siglas RF se corresponden con la nomenclatura en inglés de "Restricted feeding".

otra mitad se mantuvieron a temperatura ambiente estándar (TA21-AL). En este estudio, como se aprecia en la Figura 18, no hubo un grupo pair-feed de control.

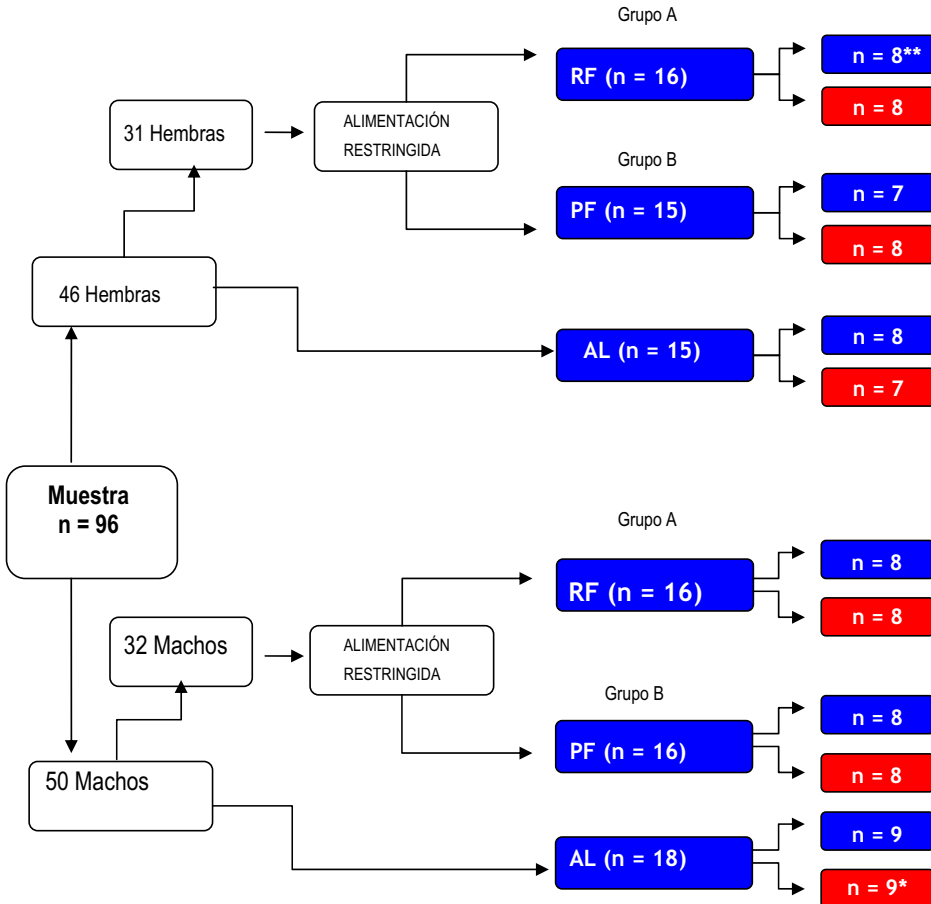


Figura 18. Esquema del procedimiento y composición de la muestra. El color de las cajas indica la temperatura ambiental: azul = 21° C y rojo = 32° C. Abreviaturas: RF = alimentación restringida; PF = pair-feed y AL = alimentación ad libitum.* Se perdió un animal finalizada la Fase I por un problema técnico.

2.4. Análisis estadístico

Se analizaron dos variables dependientes: el peso y la ingesta. Para ambas variables y para ambas fases se emplearon análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas a lo largo de los días; tomando como factores independientes, la temperatura ambiente y el tipo de régimen. En aquellos casos en los que los datos de estas variables no cumplieron el supuesto de esfericidad, se aplicó la corrección de Greenhouse-Geisser. También empleamos un Anova Univariante de dos factores para valorar el efecto que tenía el régimen de comida y la temperatura sobre el peso de los animales el Día Final.

Se aplicó una *t* de Student para muestras independientes para comparar las posibles diferencias iniciales y finales entre los diferentes grupos experimentales en el peso corporal y la ingesta. Además también se emplearon pruebas *t* de Student para muestras relacionadas para ver los cambios Pre-post para la primera y la segunda fase. Para todos los análisis se tomó un alfa de .05.

3. Resultados

A continuación se presentarán los resultados para la ingesta y el peso exponiendo en ambos casos los resultados para las hembras y para los machos. Para ello nos referiremos en primer lugar a los resultados de la Fase I y luego de la Fase II.

3.1. Ingesta

3.1.1. Hembras

No hubo ninguna diferencia en la ingesta inicial (Día 0) entre los grupos, ni para el factor régimen de comida (Media \pm SEM para **RF**: $17,1 \pm 0,2$ g, **PF**: $16,7 \pm 1,8$ g y **AL**: $19,1 \pm 0,33$ g), ni para el factor temperatura (Media \pm SEM del grupo a **21° C**: $18,05 \pm 0,57$ g y del grupo a **32° C** $17,3 \pm 1,4$ g); todas las $p > .05$.

A lo largo de la Fase I los animales que tenían acceso a la comida durante 24 horas, tuvieron un consumo medio superior en un 67,7 % al de los animales con alimentación restringida (1,5 h/día), como refleja el resultado del ANOVA $F(1, 44) = 957,68$; $p < .001$. Sin embargo, el efecto de interacción $F(7, 308) = 31,2$; $p < .001$ indica que mientras los grupos con ingesta restringida (RF) tienden a aumentar su ingesta progresivamente a lo largo de esta primera fase, la de los grupos AL se mantiene estable (véase Figura 19).

Aunque durante la Fase I todos los animales estuvieron expuestos a una TA de 21° C, teniendo en cuenta el desdoblamiento que se realizará en la Fase II, retrospectivamente podemos analizar la ingesta de los animales con alimentación ad libitum y restringida de acuerdo a la asignación posterior. Así, en el caso de los animales con alimentación ad libitum, no hubo diferencias en ingesta entre los animales que formarán los grupos TA21-AL y TA32-AL. Por lo que respecta a los animales con restricción de comida, tampoco hubo diferencias entre los animales que durante la Fase II constituyeron los cuatro grupos TA21-RF, TA32-RF, TA21-PF32 y TA32-PF21. En la 3ª columna de la Tabla 11 se muestran los valores de la ingesta promedio y acumulada para la Fase I (todas las $p > .05$).

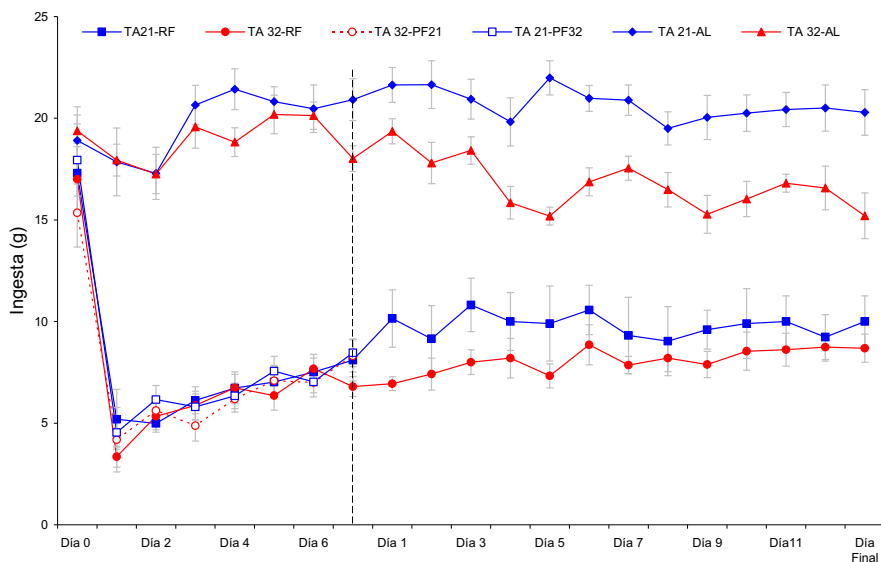


Figura 19. Media \pm SEM de la ingesta en gramos para los seis grupos de hembras durante la Fase I y la Fase II. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos TA 32-RF, TA32-PF21, TA32-AL.

En la segunda fase, como se aprecia en la Figura 19 los grupos con alimentación restringida (TA21-RF y TA32-RF) comieron un 50% menos que los grupos AL (véase Figura 12), una diferencia que se mantuvo independientemente de la temperatura, como lo revela el ANOVA de medidas repetidas $F(1, 12) = 93,6$; $p < .01$ y $F(1, 12) = 197,59$; $p < .01$, respectivamente para los grupos TA21-AL vs. TA21-RF y TA32-AL vs. TA32-RF.

La manipulación de la temperatura en la segunda fase tuvo un efecto marcado sobre la ingesta de todos los grupos. Los animales ad libitum a 21° C (TA21-AL) comieron un 20% más que los animales que permanecieron a 32° C (TA32-AL), como lo demuestra el resultado del ANOVA $F(1, 13) = 43,66$; $p > .001$. Este aspecto también se refleja en los valores de ingesta promedio acumulada, en las filas E y F de la sexta columna de la Tabla 11.

Por lo que respecta a los animales con alimentación restringida (RF), como se puede ver en la Figura 19, se produjo un efecto similar durante la Fase II; los animales con alimentación restringida (RF) mantenidos a 21° C comieron un 20 % más que los animales alojados a 32° C, $t(11) = 7,68$; $p < .001$. Sin embargo esta diferencia no resultó ser significativa en el ANOVA para la segunda fase, $F(1, 11) = 2,10$; $p = .17$ debido a la variabilidad mostrada por los animales. Sin embargo, como los grupos PF recibían la media de los grupos RF, el ANOVA muestra una diferencia de ingesta significativa durante la Fase II entre los dos grupos pair-feed, $F(1, 13) = 370,1$; $p < .001$.

Tabla 11. Valores relativos a la ingesta y al peso corporal en la Fase I y II para todos los grupos de hembras.

Hembras									
Fase I (Día 1 - 7)			Fase II (Día 8 - 20)			t de Student para muestras relacionadas			
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª		
	Peso corporal final (g)	Peso corporal final (%) (Día 0)	Ingesta promedio acumulada / promedio de toda la Fase I (g)		Peso corporal final (%) (Día 0)	Ingesta promedio acumulada / promedio de toda la Fase II (g)	Peso corporal final de la Fase I - II		
A	TA21-RF n = 8	164,3 ± 3,2	83,22 ± 1,2	45,66 ±3,4 / 6,8 ± 0,5	TA21-RF n = 6	173 ± 10,1	87,44 ± 4,4	95,75± 25,40 / 9,82 ± 1,1	t (5) = -1,23 p = .27
B	TA32-RF n = 8	166,3 ± 2,3	83,09 ± 1,4	42,13 ± 3, / 6,2 ± 0,4	TA32-RF n = 7	180,8 ± 2,9	90,72 ± 2,1	92,11 ± 14,9 / 8,09 ± 0,4	t (6) = -6,07 p = .001
C	TA21-PF32 n = 7	169,5 ± 3,4	85,20 ± 1,0	40,15 ± 7,1 / 6,5 ± 0,3	TA21-PF32 n = 7	169,7 ± 3,5	85,27 ± 1,0	104,9 ± 1,5	t (6) = 1,00 p = .35
D	TA32-PF21 n = 8	163 ± 3,6	81,56 ± 1,2	43,27 ±3,2 / 6,1 ± 0,4	TA32-PF21 n = 8	181,1 ± 2,9	90,66 ± 0,8	125,1 ± 0,43	t (7) = -14,72 p < .001
E	TA21-AL n = 8	232 ± 4,5	113,3 ± 1,	139,4 ± 4,2 / 19,9 ± 0,5	TA21-AL n = 8	266 ± 5,2	129,9 ± 1,17	289 ±6,15 /20,6 ± 0,4	t (7) = -24,71 p < .001
F	TA21-AL n = 7	226,1 ± 2,3	109,9 ± 1,6	115,43 ± 17,9 / 18,8 ± 0,4	TA32-AL n = 7	257 ± 4,8	129,91 ± 2,9	203,6 ± 31,5 /16,6 ± 0,4	t (6) = -11,68 p < .001

3.1.2. Machos

Para los machos tampoco hubo diferencias en la ingesta de los grupos en el Día 0, ni para el régimen de comida (Media \pm SEM para **RF**: 26,23 \pm 1,4 g, **PF**: 25,55 \pm 1,1 g y **AL**: 28,44 \pm 1,4 g), ni para el factor temperatura (Media \pm SEM para **21° C**: 27,63 \pm 1,14 y para **32° C**: 25,98 \pm 1,06); todas las $p > .05$.

También durante esta Fase I los machos con alimentación ad libitum comieron un 69% más que los grupos con ingesta restringida (RF), una diferencia que fue significativa $F(1, 48) = 738,6$; $p < .001$; sin embargo, al igual que ocurrió en las hembras, el efecto de interacción $F(7, 336) = 40,5$; $p < .001$, indica la misma tendencia, para los animales con alimentación restringida, a aumentar paulatinamente su ingesta a lo largo de esta primera fase, mientras que la ingesta de los machos AL se mantiene estable (véase Figura 20).

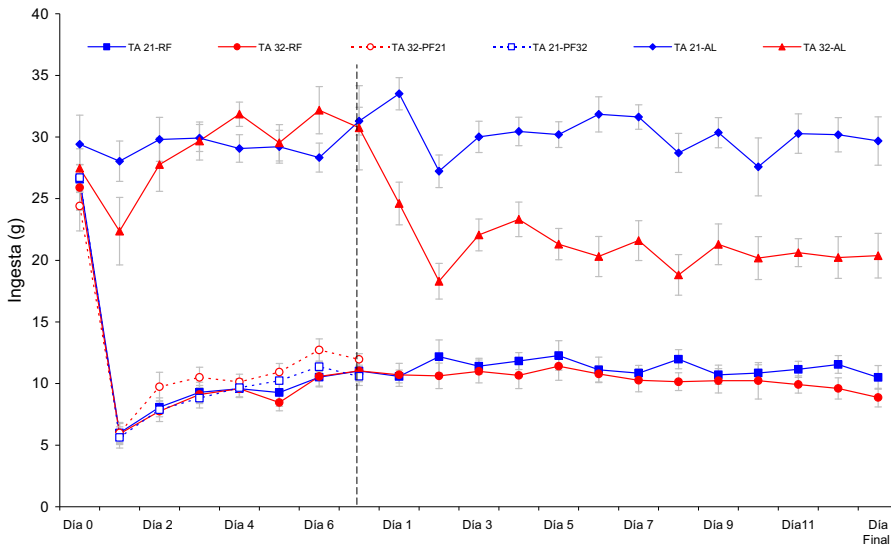


Figura 20. Media \pm SEM de la ingesta en gramos para los seis grupos de machos durante la Fase I y la Fase II. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos TA32-RF, TA32-PF21, TA32-AL.

Al igual que hicimos en el apartado de las hembras realizamos un análisis retrospectivo de la ingesta de los animales con alimentación ad libitum y restringida de acuerdo a la asignación durante la segunda fase. Tampoco para los animales macho hubo diferencias significativas en la ingesta de ningún grupo, bien entre los que se generaron con alimentación ad libitum (TA21-AL y TA32-AL), o con alimentación restringida (TA21-RF, TA32-RF, TA21-PF32 y TA32-PF21). Los valores relativos a la ingesta promedio y acumulada se muestran en la 3ª columna de la Tabla 12 (todas las $p > .05$).

Durante la Fase II, los grupos AL también comieron casi un 60% más que los grupos con alimentación restringida, sin embargo, como se aprecia en la Figura 20, la ingesta del grupo TA32-AL fue significativamente inferior a la del grupo TA21-AL que comió un 30% más, $F(1, 15) = 31,58$; $p > .001$ (véase en la 6ª columna de la Tabla 12 los valores medios y acumulados). El factor temperatura también creó diferencias entre los grupos con diferente régimen de alimentación, así el grupo TA21-RF comió un 62 % menos que el grupo TA21-AL, $F(1, 15) = 309,8$; $p < .01$ y el grupo calentado un 51% menos que el grupo TA32-AL, $F(1, 14) = 52,28$; $p < .01$ (véase Figura 20).

También durante la Fase II la temperatura ambiental tuvo un efecto sobre la ingesta de los grupos con alimentación restringida, ya que los animales RF mantenidos a 21° C comieron un 10% más que los animales alojados a 32° C, sin embargo esta diferencia tampoco fue significativa en el Anova de medidas repetidas $F(1, 14) = 1,61$; $p = .22$. Para los grupos PF, que como explicamos en el apartado de las hembras carecen de variabilidad, si que hubo una diferencia significativa $F(1, 14) = 128,9$; $p < .001$.

Tabla 12. Valores relativos a la ingesta y al peso corporal en la Fase I y II para todos los grupos de machos.

Machos									
Fase I (Día 1 - 7)					Fase II (Día 8 - 20)				t Student para muestras relacionadas
1ª	2ª	3ª	4ª		5ª	6ª	7ª		
Peso corporal final (g)	Peso corporal final (%) (Día 0)	Ingesta promedio acumulada/ promedio de toda la Fase I (g)		Peso corporal final (g)	Peso corporal final (%) (Día 0)	Ingesta promedio acumulada / promedio de toda la Fase II (g)	Peso corporal final de la Fase I - II		
A TA21-RF n = 8	221,2 ± 6,0	63,72 ± 4 / 9,1 ± 0,3	TA21-RF n = 8	221 ± 7,1	83,63 ± 2,5	146,9 ± 5,76 / 11,30 ± 0,21	t (7) = 0,055 p = .95		
B TA32-RF n = 8	221,1 ± 5,6	62,43 ± 4,2 / 8,9 ± 0,3	TA32-RF n = 8	229,75 ± 8,3	88,61 ± 3,2	134,4 ± 8,8 / 10,34 ± 0,2	t (7) = -1,77 p = .119		
C TA21-PF32 n = 8	226,1 ± 3,8	64,15 ± 2,9 / 9,1 ± 0,3	TA21-PF32 n = 8	210 ± 5,5	79,06 ± 1,1	130 ± 2,16	t (7) = -6,4 p < .001		
D TA32-PF21 n = 8	227 ± 3,3	71,97 ± 4,1 / 10,23 ± 0,3	TA32-PF21 n = 8	253 ± 2,9	97,95 ± 1,98	147,4 ± 0,72	t (7) = 6,09 p < .001		
E TA21-AL n = 9	316,3 ± 6,4	205,6 ± 7,37 / 29,39 ± 1,05	TA21-AL n = 8	397,2 ± 10,4	154,3 ± 3,55	423,1 ± 14,9 / 30,22 ± 1,07	t (8) = -13,91 p < .001		
F TA21-AL n = 9	311,3 ± 8,7	206,7 ± 8,9 / 28,95 ± 1,21	TA32-AL n = 9	354,6 ± 11,6	163,6 ± 7,7	270,55 ± 35,5 / 21,08 ± 1,57	t (7) = -3,27 p = .014		

3.2. Peso corporal

3.2.1. Hembras

A pesar de que la solicitud de los animales al animalario de la universidad se realizó con las mismas instrucciones, los animales utilizados en último lugar para el estudio con alimentación ad libitum, eran ligeramente más pesados que las ratas utilizadas en el estudio de alimentación restringida (Media \pm SEM, $204 \pm 1,8$, vs. $199,1 \pm 1,2$; respectivamente; $t(44) = 2,9$; $p < .01$). Esta diferencia inicial de peso provocó que, visto retrospectivamente, también hubiera diferencias entre algunos de los grupos que se constituyen en la Fase II, que aparecen en la Figura 18, específicamente entre los grupos TA32-AL vs. TA32-PF21 (Media \pm SEM, $205,8 \pm 1,9$ y $199,2 \pm 1,8$, $t(13) = 2,5$; $p = .02$), como se puede apreciar en la Figura 21.

Durante la Fase I, los animales AL ganaron peso, mientras que los animales con alimentación restringida lo perdieron, como muestra el ANOVA de medidas repetidas a lo largo de los días, $F(1, 44) = 413,19$; $p < .001$, además también hubo un efecto de interacción $F(7, 308) = 323,6$; $p < .001$, ya que mientras los animales AL tuvieron una ganancia de peso del 12%, los grupos con alimentación restringida (A y B), perdieron un 20 % de su peso corporal inicial.

Teniendo en cuenta el desdoblamiento posterior, tampoco hubo diferencias entre los grupos que se formarán en la Fase II a partir de los grupos A y B, ni entre los animales del grupo AL, como se puede apreciar en los valores de la 1ª columna de la Tabla 11.

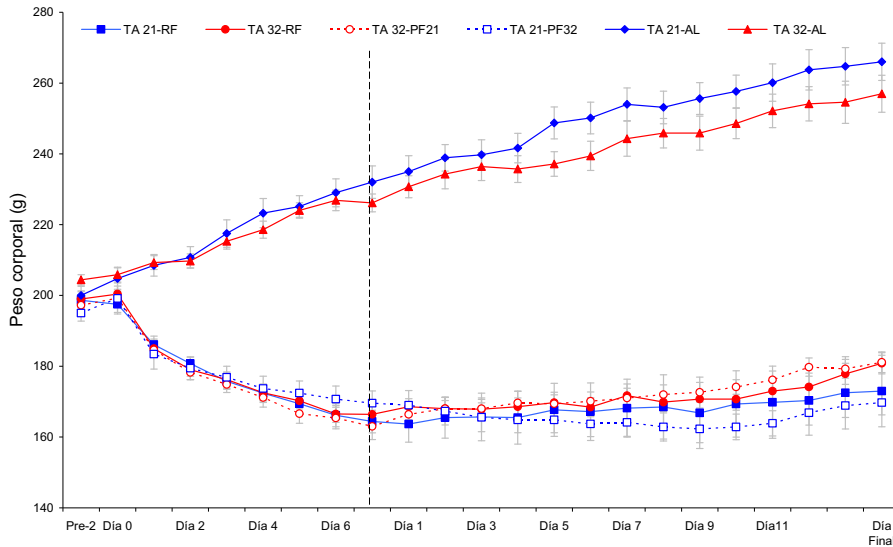


Figura 21. Media \pm SEM del peso corporal para las hembras, durante la Fase I y II. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos TA 32-RF, TA32-PF21, TA32-AL.

Durante la Fase II las diferencias de peso entre los grupos AL y los otros grupos (TA21-RF; TA21-PF32 y TA32-RF, TA32-PF21), se mantuvieron, independientemente de la temperatura a la que estuvieran alojados, ya fuera a temperatura estándar $F(2, 18) = 101,8; p < .001$ o a temperatura elevada $F(2, 19) = 187,92; p < .001$.

Dentro de cada una de las modalidades de alimentación, la temperatura no tuvo impacto sobre el peso corporal ni en los grupos AL (AL-21 vs. AL-32) ni RF (TA21-RF vs. TA32-RF), todas las $p > .05$. Sin embargo, una t de Student para los animales RF reveló que a pesar de que el grupo alojado a 32° C, redujo su ingesta un 20%, fue el único que, respecto a la Fase I, aumentó significativamente de peso durante la segunda fase (véase la fila B de la Tabla 11).

Con respecto a los grupos pair-feed, sólo el grupo alojado a 32° C, que recibió la ingesta media diaria consumida el día anterior por el grupo de RF mantenido a 21° C (TA32-PF21), ganó peso significativamente durante la Fase II, como se puede apreciar en la Tabla 11. Además, comparando mediante un Anova de medidas repetidas el peso corporal a lo largo de los catorce días de la segunda fase, no hay efecto principal, pero si hay un efecto de interacción entre los dos grupos PF, $F(13, 169) = 0,16$; $p < .01$. Pruebas t realizadas entre ambos grupos, muestran que del Día 9 en adelante el peso del grupo TA32-PF21 fue superior al del grupo TA21-PF32 (todos las t de Student $< .05$).

La presencia del grupo pair-feed nos permite representar la ganancia de peso de los animales que ingirieron la misma cantidad de comida (RF y PF) en función de la temperatura ambiental. En la Figura 22 se puede apreciar que independientemente de la cantidad de comida ingerida (espontáneamente en los grupos RF y prefijada en los grupos PF), la ganancia de peso es mayor en función de la TA.

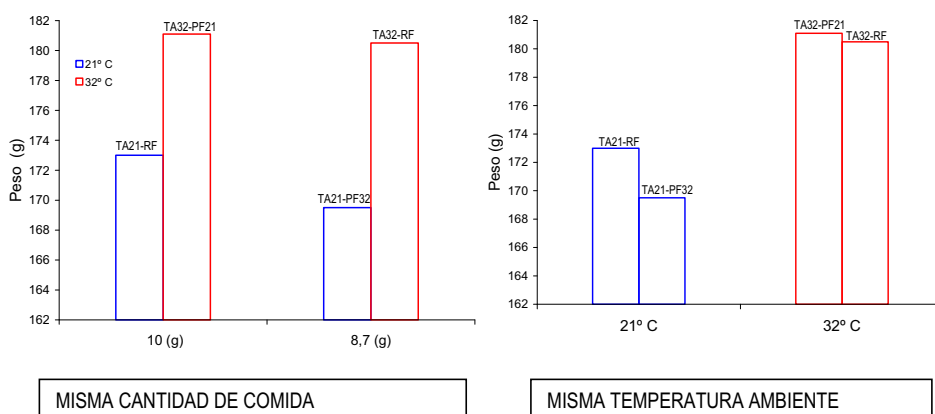


Figura 22. Media de peso corporal (g) para los cuatro grupos de hembras con alimentación restringida. En el panel de la izquierda representamos adosados los grupos que comieron la misma cantidad de comida a diferente temperatura. En el panel de la derecha en cambio representamos los que estuvieron a la misma temperatura recibiendo diferente cantidad de comida.

Esta mayor ganancia de peso se confirmó con un Anova Univariante de dos factores para el peso corporal del Día Final, que reveló que el factor temperatura tenía un efecto significativo sobre el peso corporal $F(1, 24) = 4,14$; $p = .05$; sin embargo, la cantidad de ingesta administrada y la interacción de ambos factores no fue significativa ($ps > .05$).

3.2.2. Machos

A diferencia de las tandas de hembras, para los machos no hubo diferencias en el peso inicial (Día 0), lo que no produjo diferencias (todas las $p > .05$) entre los grupos que finalmente se formarían en la Fase II.

Durante la Fase I, los grupos AL ganaron un 24% de peso, mientras que los grupos con alimentación restringida perdieron un 15%. Esto produjo una diferencia significativa en el ANOVA a lo largo de esta fase, $F(1, 48) = 154,2$; $p < .001$, y un efecto de interacción $F(7, 336) = 471,9$; $p < .001$ (véase Figura 23). Analizando por separado cada estudio, y teniendo en cuenta la asignación posterior en la Fase II, no hubo diferencias ni entre los grupos AL, ni internamente entre los grupos RF y PF, ni entre ambas modalidades de alimentación restringida (todas las $p > 0.05$).

Los machos AL en esta segunda fase también pesaron más que los otros grupos (TA21-RF; TA21-PF32 y TA32-RF, TA32-PF21), independientemente de la temperatura a la que estuvieran alojados $F(2, 22) = 191,1$; $p < .001$, para los grupos a 21° C y $F(2, 21) = 91,6$; $p < .001$ para 32° C.

A diferencia de lo que ocurrió con las hembras, la temperatura ambiental produjo diferencias significativas en el peso de los grupos AL, ya que los machos del grupo AL-21 pesaron más que los del grupo AL-32, $F(1, 15) = 9,15$; $p = .009$. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los grupos RF, $F(1, 14) = 0,47$; $p = .50$.

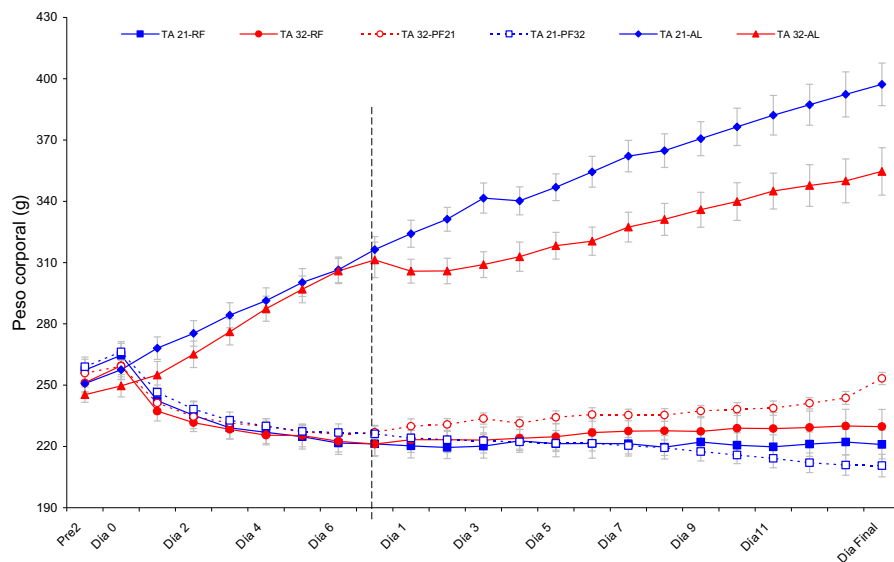


Figura 23. Media \pm SEM del peso corporal para todos machos, durante la Fase I y II. La línea punteada vertical indica el punto en el que la temperatura ambiental se elevó a 32° C para los grupos TA 32-RF, TA32-PF21, TA32-AL.

Por lo que respecta a los dos grupos pair-feed, mientras el grupo TA32-PF21 ganó peso significativamente durante la Fase II, hasta recuperar casi el 100% del peso inicial (véase 5ª columna, fila D de la Tabla 12), el grupo TA21-PF32 perdió peso, como muestra la interacción en el ANOVA realizado para los días de esta fase, $F(13, 182) = 35,5$; $p < .001$ y el efecto principal $F(1, 14) = 16,41$ y $p = .001$ (véase fila C, en la Tabla 12).

Los dos grupos pair-feed, a diferencia de lo que ocurrió con las hembras, mostraron un cambio significativo en su tendencia. Un Anova Univariante para el peso corporal del Día Final de la Fase II reveló que tanto la temperatura $F(1, 28) = 18,85$; $p < .001$, como la cantidad de comida administrada $F(1, 28) = 8,19$; $p = .008$, fueron factores significativos para la ganancia de peso, como se puede apreciar visualmente en los dos paneles de la Figura 24.

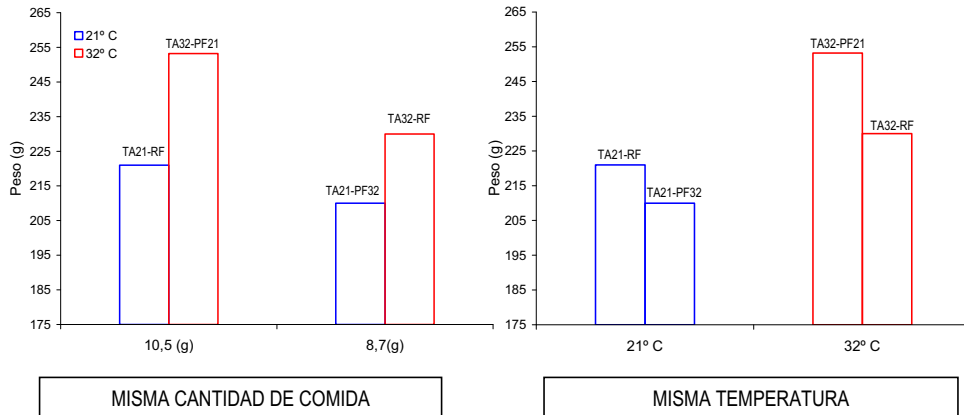


Figura 24. Media \pm SEM del peso corporal (g) para los cuatro grupos con ingesta restringida que comieron la misma cantidad de comida pero a diferente temperatura.

Con el objeto de apreciar el efecto por separado de los dos factores, la temperatura ambiental y la cantidad de comida, sobre el ritmo de crecimiento, se realizaron diversos ANOVAS de medidas repetidas a lo largo de todos los días de la Fase II. Así, en relación a la temperatura ambiental, si comparamos el peso corporal durante los 14 días que dura la Fase II del grupo a 21° C con alimentación restringida (TA21-RF), con el grupo a 32° C que recibe la misma cantidad de comida (TA32-PF21), se comprueba que este último grupo tuvo una ganancia de peso significativamente superior para toda la fase, $F(1, 14) = 16,41$; $p = .001$, ganancia que fue en aumento a lo largo de los 14 días $F(13, 182) = 35,5$; $p < .001$. Esta misma diferencia se produce al comparar el grupo a 32° C con alimentación restringida (TA32-RF), con el grupo que comió la misma cantidad a temperatura opuesta (TA21-PF32), en este caso, este último grupo tuvo un peso significativamente inferior, $F(1, 14) = 7,12$; $p = .01$ y continuó perdiendo peso progresivamente $F(13, 182) = 8,04$; $p = .001$. Así pues los animales alojados a 32° C tuvieron una ganancia de peso muy superior a aquellos alojados a 21° C, independientemente de la cantidad de comida consumida.

Con respecto a la cantidad de comida administrada, si comparamos los grupos que se mantuvieron a la misma temperatura y que recibieron diferente

cantidad de comida, en ambos casos (TA21-RF vs TA21-PF32 y TA32-RF vs. TA32-PF21) se observó una interacción significativa, $F(13, 182) = 6,26$; $p = .007$ y $F(13, 182) = 3,58$, $p = .03$, respectivamente para ambos grupos. Sin embargo, en este caso no hubo diferencias en el peso medio de los animales, como lo demuestra la ausencia de significación para el efecto principal; todas las $p \geq .05$.

4. Discusión

En primer lugar, los resultados de estos dos estudios confirman el hecho, bien conocido, de que la restricción de alimento para las ratas de laboratorio (Sprague-Dawley en este caso) no supone ningún riesgo para la vida de los animales, ya que ninguno de los animales sometidos a alimentación restringida, machos y/o hembras RF y PF, tuvieron que ser retirados del experimento por una pérdida acusada de peso. De hecho todas las ratas mantenidas durante tres semanas a restricción de comida, a una temperatura de 21° C, (TA21-RF), que es la temperatura estándar en la investigación ABA, resistieron el experimento.

En cambio, tanto en los machos como en las hembras que se sometieron a restricción de alimento (1,5 h/día) durante la primera semana (Fase I), se produjo una caída moderada del peso, que para ambos sexos se situó en torno al 17% (véase Figura 25).

Por lo que respecta a la ingesta, el primer día en el que los animales se enfrentaban por primera vez a la restricción de alimento, tuvo una caída en vertical en torno al 80% para ambos sexos. Sin embargo, durante la primera semana (Fase I), la ingesta mantuvo un ritmo creciente, con una recuperación en torno a un 45% para los machos y del 50 % para las hembras al final de la Fase I.

Por su parte, durante la Fase II, tanto machos como hembras con alimentación restringida a temperatura estándar (TA21-RF), o bien mantuvieron

su peso como en el caso de los machos, o lo recuperaron en torno a un 3% en el caso de las hembras. Así, mientras en los machos la ingesta se mantuvo estable, en las hembras aumentó ligeramente. Para los animales a los que se aumentó la temperatura, también hubo diferencias de peso e ingesta entre machos y hembras. Mientras que las hembras a 32° C siguieron aumentando su ingesta durante la Fase II, los machos no lograron mantener el crecimiento de la ingesta observándose incluso una tendencia a decrecer del Día 9 en adelante (véase Figura 25). Como resultado de esta diferencia en la ingesta, tanto machos como hembras a 32° C continuaron ganando peso a lo largo de la Fase II (3% y 6% respectivamente). Sin embargo, al finalizar esta segunda fase sólo las hembras ganaron peso significativamente respecto al peso inicial, es decir, respecto al peso que tenían el ultimo día de la Fase I. En relación a los machos, aunque esta ganancia no fue significativa para el último día, el grupo TA32-RF ganó un 5% más que el grupo TA21-RF, aun comiendo un 10% menos.

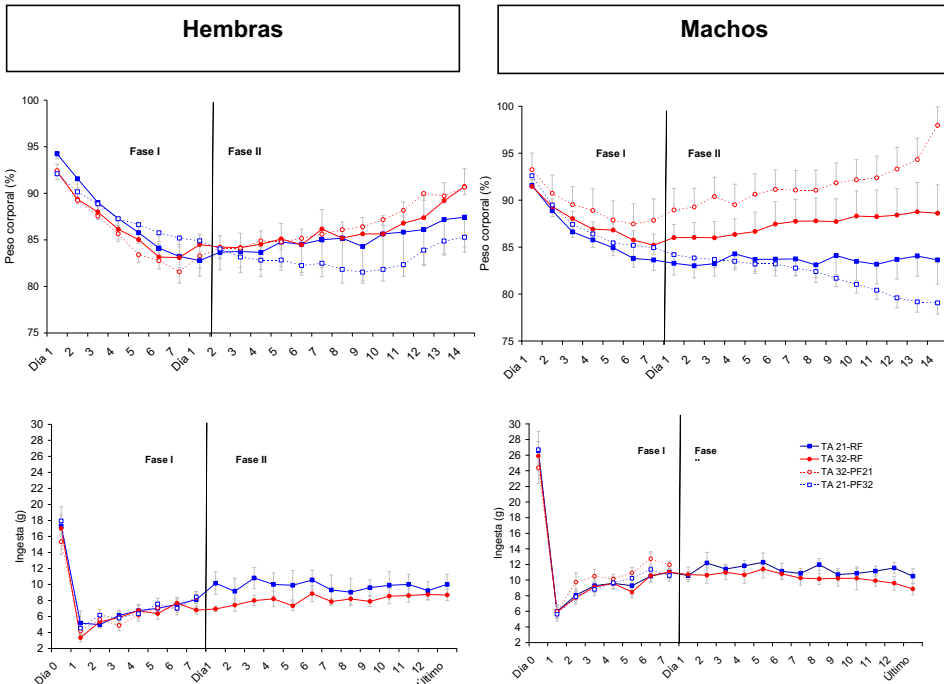


Figura 25. Gráficos comparativos de peso e ingesta (\pm SEM) de los grupos de machos y hembras con ingesta restringida a lo largo de todo el estudio.

Esta reducción de la ingesta que se observa en las ratas calentadas nunca había sido descrita previamente en la literatura, y menos aún la ausencia de repercusión sobre la ganancia de peso, ya que tanto los machos como las hembras calentadas con alimentación restringida (grupos TA32-RF), ganaron peso. Esto parece indicar que elevar la temperatura ambiente hasta el extremo superior de la zona termoneutral tiene un importante efecto amortiguador sobre la disipación de calor y la regulación del peso corporal.

Por otra parte, frente a la reducción de peso descrita hasta ahora para los animales sujetos a alimentación restringida, los animales AL ganaron peso a lo largo de las tres semanas, aunque para los animales AL a los que se incremento la TA a 32°C, se produjo un descenso en la ingesta del 30% para machos y del 20% para las hembras. Este fenómeno de reducción de la ingesta ya había sido descrito por Brobeck (1948) y se comprende dentro de su afirmación: *"mammals eat to keep warm and stop eating to prevent hyperthermia"* (Brobeck, 1948, p. 551). Sin embargo, mientras que a las hembras calentadas la reducción en la ingesta no les repercutió negativamente sobre el peso, en los machos si lo hizo, ya que el grupo de machos AL-32 ganó significativamente menos peso que el grupo de machos AL-21.

Respecto a los grupos pair-feed, para las hembras no aparecieron diferencias significativas con los grupos RF, y sólo a partir del Día 9 de la Fase II comenzó a repercutir en el peso la cantidad de comida ingerida a diferente temperatura entre los dos grupos PF. Sin embargo, es de destacar, como se puede observar en la Figura 25, que incluso a partir de la segunda semana de la Fase II, existe una tendencia de la hembras alojadas a 21° C (TA21-PF 32) a recuperar peso, a pesar de recibir una cantidad de comida inferior a la que espontáneamente ingieren a esa temperatura (TA21-RF). Sin embargo, para los machos la evolución del peso es muy diferente, ya que la cantidad de comida tuvo un impacto importante sobre el peso pues, mientras que el grupo TA21-PF32 perdió un 5% de peso, el grupo TA21-PF32 ganó un 10%, una diferencia que fue significativa durante todos los días de la segunda fase, como se observa en la Figura 25. Esta diferencia entre machos y hembras nos indica dos cosas. En primer lugar, que en términos de ganancia o pérdida de peso

como reveló el Anova Univariante aparte de la temperatura, la cantidad de comida que reciben los animales es más importante para los machos que para las hembras; y en segundo lugar, si tenemos en cuenta que los machos TA21-PF32 perdieron peso progresivamente, cosa que no ocurrió en las hembras, todo parece apuntar que, en términos de peso, las hembras están más protegidas que los machos para soportar la restricción de alimento.

Esta conclusión no es más que un ejemplo concreto del comportamiento de los machos y hembras a lo largo del estudio, en el que continuamente aparece un marcado dimorfismo sexual que muestra una capacidad de adaptación al medio (ya sea temperatura o comida) muy superior a la de los machos. Así por ejemplo, mientras que las hembras son capaces en cualquiera de las condiciones estudiadas de seguir ganando peso, los machos sólo se benefician cuando las condiciones son positivas (TA32 y comida más abundante), como muestra el grupo TA32-PF21, que casi llegó a recuperar el 100% de su peso corporal inicial (Día 0). Por el contrario, el grupo sometido a las condiciones menos favorecidas (TA21 y comida menos abundante) perdió en torno al 20% de peso con respecto al Día 0. Esta superioridad de las hembras probablemente sea el resultado de una diferencia evolutiva, que ha dotado a las hembras de una mayor capacidad de supervivencia en un ambiente de escasez de alimento (Hoyenga y Hoyenga, 1982), una ventaja que, en términos de balance energético, puede derivarse de las exigencias que demanda la función reproductiva. Así, los factores endocrinos subyacentes a la “feminidad” parecen ser una ventaja en la capacidad de adaptarse a los cambios del estado metabólico (Horton y Braun, 2002), una diferencia que aparece también en la literatura en humanos, que muestran que las mujeres pueden aumentar la ingesta para compensar el gasto energético en mayor medida que los hombres (Paul, Novotny y Rumpler, 2004; Westerterp y Goran, 1997).

Esta mayor eficiencia metabólica de las hembras se refleja en que, en términos de crecimiento, las hembras sometidas a restricción de comida se ven menos afectadas que los machos. Así, mientras que las hembras a temperatura estándar, después de tres semanas de alimentación restringida,

pierden el 42% de peso respecto a las hembras con alimentación *ad libitum*, para los machos la pérdida de peso supera el 70%. Esta menor repercusión sobre el ritmo de crecimiento, conlleva que en circunstancias de escasez de alimento, las hembras sean capaces de preservar la masa de los órganos vitales en mayor medida que los machos (Valle y Roca, 2007). Sin embargo, en condiciones de escasez de alimento, como se desprende de los resultados, tanto machos como hembras acusan el efecto beneficioso de la temperatura ambiental elevada sobre el peso corporal.

Así, en términos de investigación translacional, los resultados de este capítulo apuntan la posibilidad inexplorada, de que proporcionar un ambiente más cálido a las pacientes durante el proceso de recuperación del peso, podría potenciar la ganancia de peso incluso administrando un soporte calórico más bajo; lo que indicaría que el efecto terapéutico del calor podría ir más allá de una estrategia eficaz para controlar la hiperactividad en pacientes con anorexia nerviosa. Y refuerzan los datos que muestran que el empleo del calor puede ser una estrategia eficaz para manejar la hiperactividad en las pacientes con anorexia nerviosa (Gutiérrez y Vázquez, 2002).

Este estudio plantea un tema interesante para futuras investigaciones ya que la mayoría de las habitaciones de los hospitales, donde transcurre la estancia de las pacientes que necesitan recuperar peso, están a una temperatura ambiente similar a la del laboratorio donde se encuentran las ratas, que es en torno a 21° C - 22° C. Además, estas pacientes tienen dificultades para subir de peso durante la rehabilitación nutricional, a pesar de recibir una ingesta calórica muy elevada (Kaye, Gwirtsman, Obarzanek, George, Jimerson y Ebert, 1986), y hasta una tercera parte de la energía que ingieren no puede ser procesada ya que es disipada a través de la termogénesis que produce una dieta calórica tan elevada (Moukaddem et al., 1997; Russell et al., 1998), sin mencionar los efectos secundarios, tanto hormonales como psicológicos, así como las incómodas consecuencias que implica para las pacientes este tipo de tratamiento (Moukaddem, et al., 1997; Rigaud et al., 2007; Russell et al., 1998).

Sin duda los hallazgos de estos tres capítulos invitan a uno a especular el mecanismo de acción por el que la manipulación de la temperatura ambiente produce todos estos cambios comportamentales, modulando el proceso de deterioro y de recuperación en el modelo ABA. Así, en el siguiente capítulo trataremos de indagar los mecanismos subyacentes que regulan la ingesta y el peso corporal centrándonos fundamentalmente en el circuito neuronal de las melanocortinas.

CAPÍTULO 6

La temperatura ambiente elevada
normaliza la sobreexpresión
hipotalámica del receptor MC4
en un modelo animal de
Anorexia Nerviosa

1. Introducción

La anorexia nerviosa (AN) es un trastorno alimentario caracterizado por hipofagia, pérdida de peso, hipotermia e hiperactividad (Birmingham y Beumont, 2004). Así pues, la mayoría de las pacientes con AN, muestran una actividad física excesiva a pesar de la severa pérdida de peso y el estado de desnutrición que padecen. Esta manifestación contrasta con la pérdida de energía y la fatiga características de otros estados de inanición asociados con pérdida de peso (Hebebrand et al., 2003). La AN es un trastorno difícil de tratar, se asocia con recaídas frecuentes y es uno de los trastornos psiquiátricos con el índice de mortalidad más elevado (Birmingham, Su, Hlynsky, Goldner y Gao, 2005).

El modelo de Anorexia Basada en la Actividad (ABA) es un modelo animal de la anorexia nerviosa (Epling y Pierce, 1991; 1996; Epling et al., 1983), resultado de trabajos previos realizados durante la segunda mitad del siglo XX que documentaban el aumento progresivo de la actividad física y la auto-inanición consecuente que se producía al someter a las ratas de forma simultánea a restricción de alimentos y acceso ilimitado a la rueda de actividad (Hall y Hanford, 1954; Routtenberg y Kuznesof, 1967). El modelo ABA, también conocido con la denominación *úlceras de estrés por actividad* (A-S) (Paré y Houser, 1973), se basa en la combinación de un programa de alimentación restringida y libre acceso a la rueda de actividad. En este modelo, las ratas con acceso restringido a la comida pero ilimitado a la rueda de actividad, aumentan su carrera en la rueda de manera excesiva a la vez que reducen la ingesta, pierden un alto porcentaje de peso corporal, se vuelven hipotérmicas y son incapaces de recuperarse a menos que sean retiradas de estas condiciones experimentales (Routtenberg y Kuznesof, 1967). De hecho, la actividad física excesiva ha sido propuesta como elemento central en la patogénesis de la AN por su contribución a la extrema pérdida de peso (Davis, 1997; Epling y Pierce, 1985).

En contraste con otras hipótesis que interpretan la hiperactividad de las ratas como una forma de comportamiento de forrajeo (Spatz y Jones, 1971) o como una conducta reforzante en sí misma (Sherwin, 1998), el incremento en la actividad física, provocado por la restricción de comida, podría estar relacionado con la termorregulación (Campbell y Lynch, 1967; 1968; Paré, 1977; Gutiérrez et al., 2002). La evidencia preliminar sobre la que se apoya esta última hipótesis, procede del potente efecto modulador de la temperatura ambiente observado en el contexto de la investigación acerca de la formación de úlceras (Lambert, 1993; Morrow et al., 1997). Sin embargo, este efecto modulador de la temperatura ha sido ignorado en la investigación de ABA hasta no hace mucho tiempo (Gutiérrez et al., 2002). Recientemente, se demostró que el acceso voluntario a una placa caliente reducía la hiperactividad de las ratas en el modelo ABA (Hillebrand et al., 2005d), y que realizar el experimento a una temperatura termoneutral (situada para las ratas en 29° C) evitaba que los animales desarrollasen una actividad excesiva, permitiendo así la supervivencia de los animales en comparación con aquellos animales sometidos al procedimiento ABA a una temperatura estándar de 21° C (Gutiérrez et al., 2006, exp 1). Además, elevar la temperatura ambiente una vez que los animales han perdido un 20% de peso y la actividad es excesiva, invierte tanto la hiperactividad como la pérdida de peso, permitiendo la recuperación del 100% de la ratas, un índice de recuperación del que nunca antes se había informado en la literatura (Gutiérrez et al., 2008). En resumen, la aplicación del calor inhibe el desarrollo de ABA, pero lo más importante es que invierte las consecuencias de la exposición al procedimiento ABA una vez que éstas se han desarrollado.

Por otra parte, también se ha descrito una relación entre AN y la temperatura ambiente (Vázquez, Carrera, Birmingham y Gutiérrez, 2006), siendo el calor un componente utilizado en el tratamiento de la AN, tal como muestran los datos preliminares procedentes de estudios de caso (Gutiérrez y Vázquez, 2001) y ensayos clínicos aleatorizados (Bergh et al., 2002; Birmingham et al., 2004).

Dado que el modelo ABA es el modelo animal que mejor refleja el trastorno en humanos, y dada la llamativa coincidencia del papel beneficioso del calor tanto en animales como en el trastorno en humanos, se hace necesario profundizar en el efecto de la temperatura ambiente elevada en este modelo animal, ya que esto podría permitirnos una mejor comprensión, tanto de los mecanismos que subyacen a este fenómeno, como de las posibles implicaciones clínicas del uso del calor en el tratamiento de la AN.

Entre los mecanismos que subyacen a este efecto beneficioso del calor, los cambios moleculares en el sistema de melanocortinas son unos candidatos interesantes a tener en cuenta, ya que este sistema tiene un papel crucial en el control que el sistema nervioso central ejerce sobre la ingesta y el peso corporal (Schwartz et al., 2000; Morton, Cummings, Baskin, Barsh y Schwartz, 2006), y es uno de los principales sistemas de neuropéptidos implicados en la regulación fisiológica del balance energético en el modelo de anorexia (Adan, Tiesjema, Hillebrand, la Fleur, Kas y de Krom, 2006; Hillebrand et al., 2005b). Así, las neuronas que expresan AgRP o POMC en el núcleo arqueado del hipotálamo (ARC) se proyectan al núcleo paraventricular (PVN) y al área lateral hipotalámica (LHA), además de otros núcleos varios (Baile, Della-Fera y Martin, 2000; Cone, 1999, 2005; Williams, Bing, Cai, Harrold, King y Liu, 2001). El receptor MC4 es el subtipo de receptor de melanocortinas más abundante y más ampliamente distribuido en el cerebro. De hecho, hay una alta densidad de estos receptores en varias regiones hipotalámicas implicadas en la regulación del balance energético (Mountjoy, Mortrud, Low, Simerly y Cone, 1994; Vergoni y Bertolini, 2000).

La hormona estimuladora de melanocitos (α -MSH), un péptido derivado de POMC, actúa sobre los receptores MC4 disminuyendo la ingesta y el peso corporal (Adan, Cone, Burbach y Gispén, 1994; Marsh, Hollopeter, Huszar, Laufer, Yagaloff, Fisher, Burn y Palmiter, 1999), mientras que AgRP es un antagonista que tiene alta afinidad por estos receptores (Butler, 2006; Williams et al., 2001; Neary, Goldstone, Bloom, 2004). Durante el desarrollo de ABA, se ha demostrado que la expresión de los neuropéptidos hipotalámicos que regulan el apetito varía de un modo predecible en respuesta al balance

energético negativo. Así pues, para las ratas activas con restricción de ingesta, la expresión de AgRP se regula al alza, mientras que la de POMC está regulada a la baja (de Rijke et al., 2005; Kas et al, 2003).

El objetivo del presente estudio es evaluar la potencial implicación del sistema hipotalámico de melanocortinas en el efecto beneficioso que tiene la aplicación de calor a las ratas sometidas al procedimiento ABA, un modelo de AN.

2. Método

2.1. Sujetos

Veinticuatro ratas macho Sprague-Dawley (40 días de edad) con un rango de peso de 180 - 201 g, fueron adquiridas en el Animalario Central de la Universidad de Santiago de Compostela. Las ratas se alojaron durante tres días consecutivos en el estabulario, siendo el ciclo de luz/oscuridad de 12 horas, de 08:00 h a 20:00 h. Durante este periodo las ratas tenían agua y comida ad libitum y la temperatura del laboratorio se estableció en 21° C.

El comité ético de uso y cuidado de animales aprobó los procedimientos descritos. Todos los experimentos cumplieron con la Directiva del Consejo de la comunidad Europea del 24 de Noviembre de 1986 y D. L. del 27 de Enero de 1992, 116 (86/609/CEE), esforzándonos al máximo para minimizar el sufrimiento del animal y reducir al mínimo el número de animales empleados.

2.2. Aparatos

El laboratorio constaba de 8 ruedas de actividad tipo Wahman (una circunferencia de 1,12 m de desarrollo, superficie de 10 cm de ancho) con paredes de plexiglás y suelo de rejilla metálica. Estas ruedas disponían de una caja acrílica de plexiglás adosada (28 x 28 x 14 cm³), con una rejilla

metálica superior donde se introducía la botella de agua y la comida. Las ruedas y las cajas fueron colocadas dentro de incubadoras de madera (60 x 60 x 60 cm³) con techos de policarbonato, provistas de una lámpara de calor de 150W conectada a un termostato digital cuya sonda (posicionada al mismo nivel del animal) permitía el control individualizado de la temperatura ambiente para cada animal. Se emplearon el mismo número de cajas acrílicas del mismo tamaño (28 x 28 x 14 cm³) para los animales sedentarios.

2.3. Grupos Experimentales

Los animales experimentales fueron divididos en dos grupos: Activo (n = 12) y Sedentario (n = 12). El grupo Activo fue el que se sometió al procedimiento ABA. Antes de comenzar el experimento las ratas fueron mantenidas en el estabulario con comida y agua ad libitum. Las ratas asignadas a la condición Activa fueron alojadas dentro de la incubadora, en las cajas adosadas a la rueda de actividad y durante tres días consecutivos tuvieron acceso a la rueda 2 horas al día. Las ratas Sedentarias permanecieron en sus cajas, también situadas en la incubadora. Durante este periodo de pre-exposición⁵⁰ la temperatura en las incubadoras para todos los animales se estableció en 21° C.

2.4. Procedimiento ABA

El procedimiento comenzó (Día 0) con la retirada de la comida a las 14:30 h para ambas condiciones: grupo Activo y Sedentario. Desde el Día 1 en adelante todas las ratas tuvieron acceso a la comida desde las 13:00 a las 14:30 h. Durante este periodo de alimentación se impidió el acceso a las ruedas. La ingesta diaria de comida se calculó pesando la comida al inicio y al final de cada periodo de alimentación, que duraba 1,5 h. Las ratas fueron pesadas diariamente a las 12:00 h (tal y como se hizo en el Día 0). El grupo Activo tuvo libre acceso a la rueda de actividad, excepto en los periodos de

⁵⁰ La pre-exposición a la rueda acelera el ritmo de carrera y la pérdida de peso cuando se introduce el programa de alimentación restringida (Boakes y Dwyer, 1997). Este es un procedimiento que ya ha sido empleado en investigaciones previas (Gutiérrez et al., 2006, 2008).

alimentación (13:00 - 14:30 h), en los que se cerraba la puerta, de manera que la rueda no compitiera con la comida durante el periodo de alimentación, y la ingesta de las ratas Activas pudiese ser comparada con la de las ratas Sedentarias. El procedimiento continuó hasta que las ratas Activas perdieron el 20% del peso corporal inicial en el Día 0 (CPP 20%). El tiempo requerido para perder el 20% de su peso corporal inicial varió para las ratas activas entre 5 y 9 días.

Una vez que los animales alcanzaron el CPP 20% fueron asignados a uno de los dos grupos: a) Grupo Activo a 32° C (AC21/32; en el que el termostato se elevó a 32° C), y b) Grupo Activo a 21° C (AC21/21; en el que el termostato se mantuvo a 21° C). Un número equivalente de ratas Sedentarias, previamente emparejadas en función del peso corporal inicial, fueron unidas con estos animales Activos para experimentar el mismo cambio de temperatura, formando así otros dos grupos sedentarios: c) Grupo Sedentario a 32° C (SED21/32) y d) Grupo Sedentario a 21° C (SED21/21).

Estas condiciones se mantuvieron hasta que: (1) las ratas alcanzaron el criterio de recuperación, definido como peso corporal de un día cualquiera (Día n) mayor que el peso corporal del animal cuatro días antes (Día $n - 4$), tal y como se establece en el trabajo pionero de Routtenberg y Kuznesof en 1967; o (2) el criterio de retirada, que fue definido por un peso corporal inferior al 75% con respecto al peso corporal inicial (Día 0).

2.5. Extracción hipotalámica, análisis de ARN y cuantificación con reacción en cadena polimerasa, transcripción inversa (PCR – RT)

Las ratas de cada uno de los grupos fueron sacrificadas por decapitación para obtener el hipotálamo y realizar los análisis mediante una técnica de PCR-RT. El cerebro fue dividido en tres piezas: prosencéfalo, tronco del encéfalo y cerebelo. Posteriormente, y con ayuda del atlas de estereotáxico de Paxinos y

Watson, el prosencéfalo fue dividido en cuatro partes: hipotálamo, estriado, corteza cerebral e hipocampo.

El ARN total fue aislado del hipotálamo (no más de 100 mg) usando Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras de ARN se trataron con un Kit para eliminar la contaminación con ADN genómico (DNA –freeTM, DNase treatment and renoval reagents, Ambion, The RNA Company, Applied Biosystems, CA, USA). El rendimiento y la cantidad del ARN fueron evaluados midiendo la absorbancia a 260, 270, 280 y 310 nm y por electroforesis en gel de agarosa al 1,3%. Un 1,5 µg de ARN total de cada muestra fue transcrito inversamente para conseguir la primera hebra de ADN complementario (ADNc), usando el Kit iScriptTM cDNA Synthesis (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

Los niveles relativos de ARNm de POMC, AgRP y MC4-R fueron cuantificados usando PCR-RT con un equipo iCyclerTM - MyiQTM Real Time PCR Detection System (BioRad, Hercules, CA, USA). Los niveles de ARNm de β-actina fueron medidos de forma similar y sirvieron como gen de referencia. Posteriormente se añadieron 0,1 microlitros de cada ADNc a la mezcla de reactivos para PCR (SYBR[®] Green Master Mix, Applied Biosystems, CA, USA), con los primers Upstream y Downstream (300 nM cada uno). Los primers específicos fueron sintetizados comercialmente (Tib Molbiol, Berlin, Germany), y las secuencias se especifican en la Tabla 13.

Los parámetros para PCR fueron los siguientes: inicio 2 minutos a 50° C, desnaturalización a 95° C durante 10 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 95° C durante 15 segundos y una combinación de alineamiento y extensión a 60° C durante 1 minuto. Los valores de todos los niveles de ARNm procedentes de las muestras, fueron normalizados con respecto a los valores de β-actina y el resultado fueron expresados como múltiplos del valor umbral, con respecto a los controles, usando el método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (Livak y Schmittgen, 2001).

Tabla 13. Secuencia de primers para POMC, Agrp, Receptor MC4 y β -Actina.

Gen		Primers
POMC	(forward)	5'-CCT GTG AAG GTG TAC CCC AAT GTC-3'
	(reverse)	5'-CAC GTT CTT GAT GAT GGC GTT C-3'
AgrP	(forward)	5'-AGA GTT CTC AGG TCT AAG TCT-3'
	(reverse)	5'-CTT GAA GAA GCG GCA GTA GCA CGT-3'
R-MC4	(forward)	5'-CAG CTC TCC AGC GAC TCT CA -3'
	(reverse)	5'-GCT GAC CAG TCT GCA GTT CGT-3'
β -Actina	(forward)	5'-ACG AGG CCC AGA GCA AGA G-3'
	(reverse)	5'-GGT GTG GTG CCA GAT CTT CTC-3'

2.6. Análisis estadísticos

Los datos se expresaron como Medias \pm SEM. Los análisis estadísticos se realizaron usando SPSS 13.0 (SPSS Inc. Michigan, USA). Empleamos un ANOVA de medidas repetidas para analizar la ingesta de comida y la evolución del peso corporal, mientras que para analizar las vueltas en la rueda y los análisis de PCR- Real Time se emplearon pruebas *t* de Student. Para todos los análisis se tomó una $p < .05$.

3. Resultados

3.1. Procedimiento ABA

Para las ratas del grupo Activo (AC21/21) se observó una reducción significativa en el peso corporal y en la ingesta, en relación al grupo Sedentario control (SED21/21) (Figuras 26A, 27A).

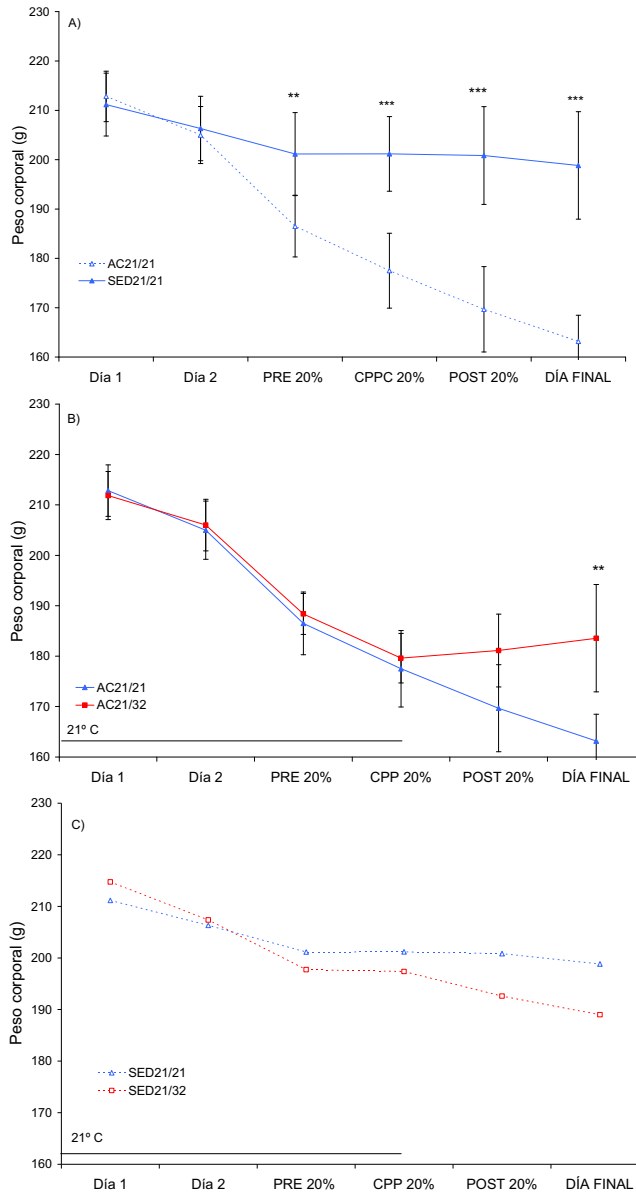


Figura 26. Peso corporal en (A) Grupo Activo (AC21/21) vs. Grupo Sedentario (SED21/21), ambos a 21° C de temperatura; en (B) Grupo Activo a 21° C (AC21/21) vs. Grupo Activo a 32° C (AC21/32) y en (C) Grupo Sedentario a 21° C (SED21/21) vs. Grupo Sedentario a 32° C (SED21/32). ** $P < .01$; *** $P < .001$. El procedimiento ABA comenzó el Día 0, y continuó hasta que los animales activos perdieron el 20% del peso corporal inicial en el Día 0 (CPP 20%), que fue el criterio para el cambio de temperatura. El Día 1, Día 2 y PRE 20% son los días previos al criterio, mientras que CPP 20% y Post 20% son los días posteriores al criterio. El Día Final fue cuando las ratas alcanzaron el criterio de recuperación o de retirada.

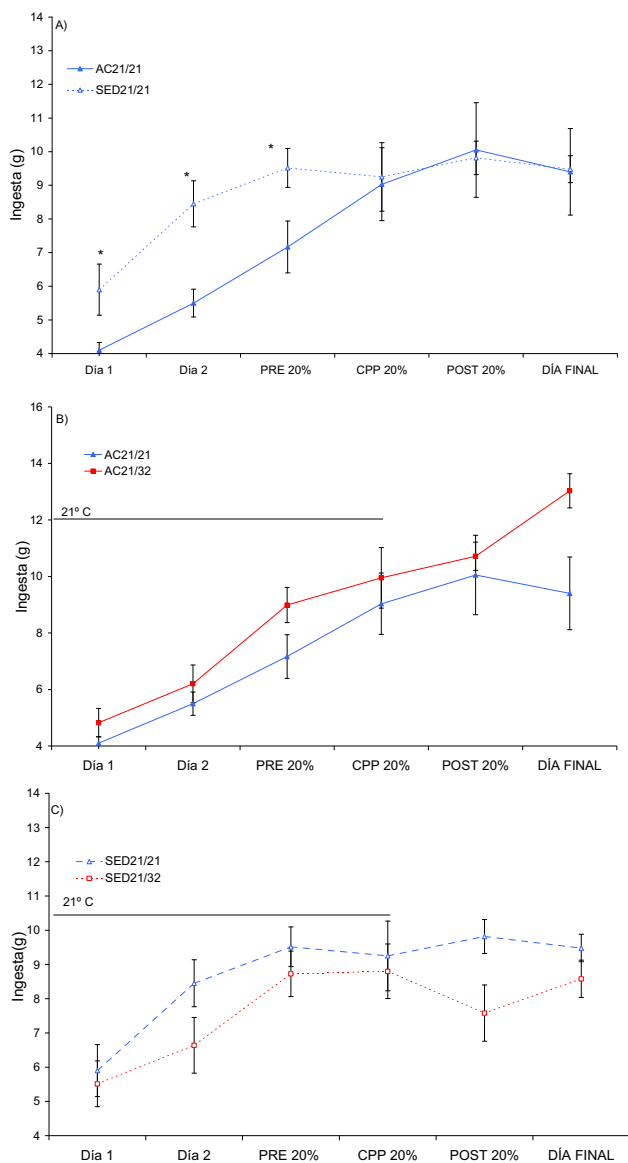


Figura 27. La ingesta en (A) Grupo Activo a 21°C (AC21/21) vs. Grupo Sedentario a 21° C (SED21/21); (B) Grupo Activo a 21° C (AC21/21) vs. Grupo Activo a 32° C (AC21/32) y en (C) Grupo Sedentario a 21° C (SED21/21) vs. Grupo Sedentario a 32° C (SED21/32). * $P < 0.05$. El procedimiento ABA comenzó el Día 0, y continuó hasta que los animales activos perdieron el 20% del peso corporal inicial en el Día 0, que fue el criterio establecido para el cambio de temperatura. Los Días 1, 2 y PRE 20% se corresponden con los días previos al criterio, mientras que CPP 20% y Post 20% son los días posteriores al criterio. Se consideró el Día Final, cuando las ratas alcanzaron el criterio de recuperación o de retirada.

A nivel hipotalámico, las ratas ABA (AC21/21) mostraron un incremento del receptor MC4 y de la expresión de AgRP, y una disminución los niveles de ARNm de POMC, con respecto al grupo control Sedentario (SED21/21) (Figura 28).

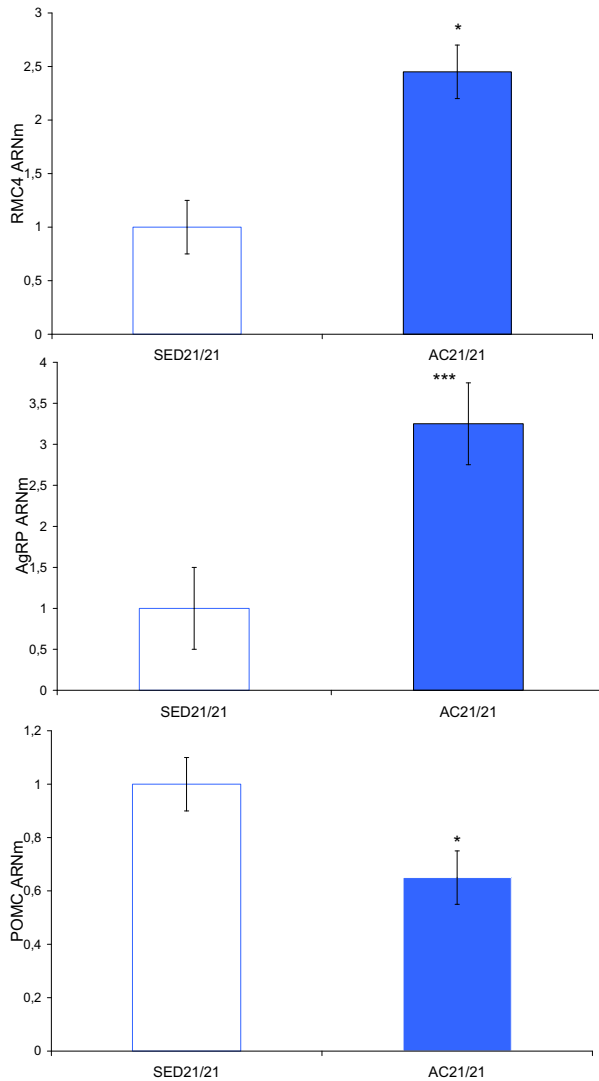


Figura 28. Receptor Mc4, Pomc y niveles de AgRP ARNm en el hipotálamo del Grupo Activo a 21° C (AC21/21) vs. Grupo Sedentario a 21° C (SED21/21). * $P < .05$; *** $P < .001$

3.2. Efectos de la temperatura ambiente elevada en el modelo ABA

En este caso, las ratas Activas que estaban a una temperatura ambiente elevada (AC21/32) mostraron un incremento significativo del peso corporal y de la ingesta con respecto al grupo Activo mantenido a 21° C (AC21/21) (Figuras 26B, 27B). Además, la exposición al calor también produjo una reducción significativa de la actividad en la rueda (Figura 29).

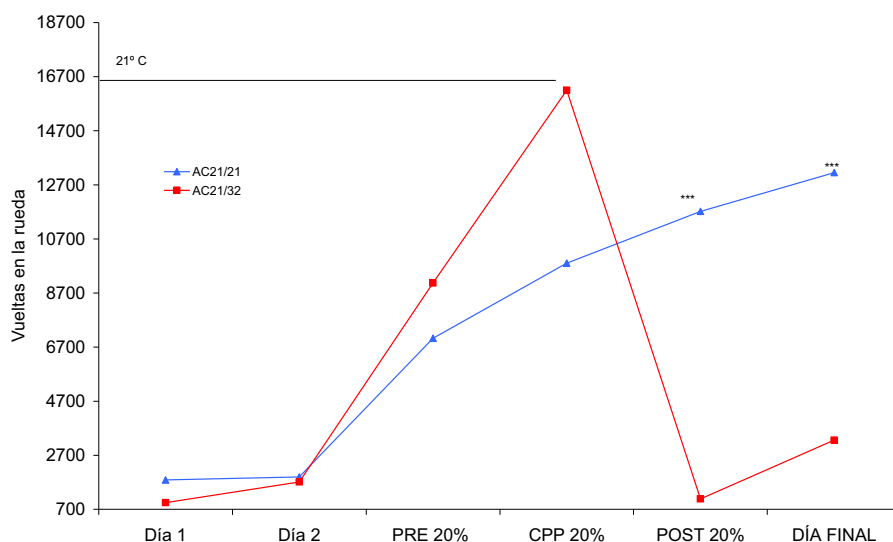


Figura 29. Vueltas en la rueda de actividad para el grupo a 21° C de (AC21/21) vs. Grupo Activo a 32° C (AC21/32).

En el hipotálamo, las ratas Activas sometidas a una temperatura elevada (AC32/32) mostraron una disminución significativa del receptor MC4, de AgRP y en la expresión de POMC con respecto a las ratas Activas mantenidas a 21° C (AC21/21) (Figura 30).

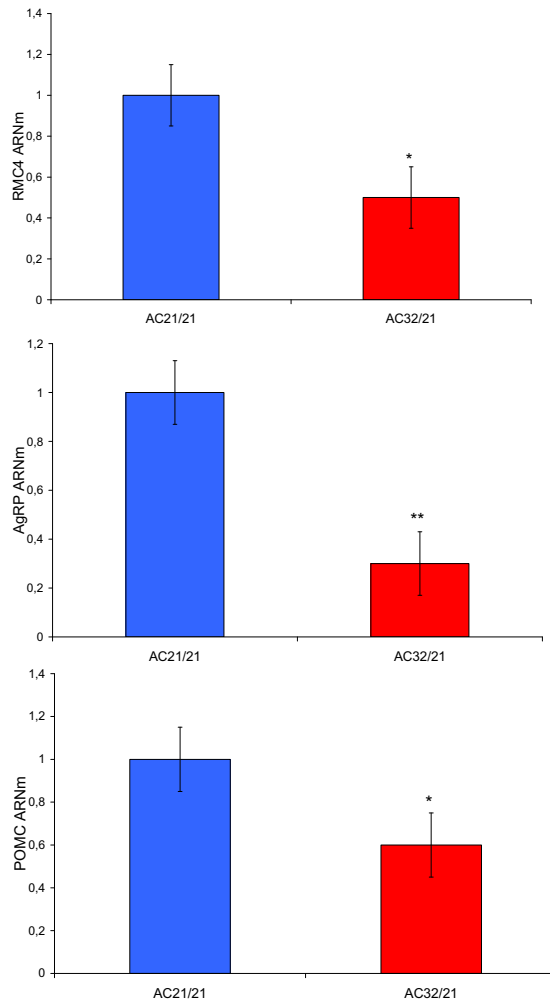


Figura 30. Receptor MC4, POMC y los niveles de AgRP ARNm en el hipotálamo para el grupo Activo a 21° C (AC21/21) vs. Activas a 32° C (AC21/32). * $P < .05$; *** $P < .001$.

3.3. Efectos de la temperatura ambiente elevada en ratas Sedentarias

Las ratas sedentarias expuestas a una temperatura ambiente elevada (SED21/32C) no mostraron cambios ni en el peso corporal, ni en la ingesta, con respecto a las sedentarias control (SED21/21) (Figuras 26C, 27C).

A nivel hipotalámico, las ratas sedentarias calentadas a 32° C de temperatura (SED21/32) tampoco mostraron cambios en el receptor MC4, AgRP y expresión de POMC, con respecto a las ratas control sedentarias (SED21/21) (Figura 31).

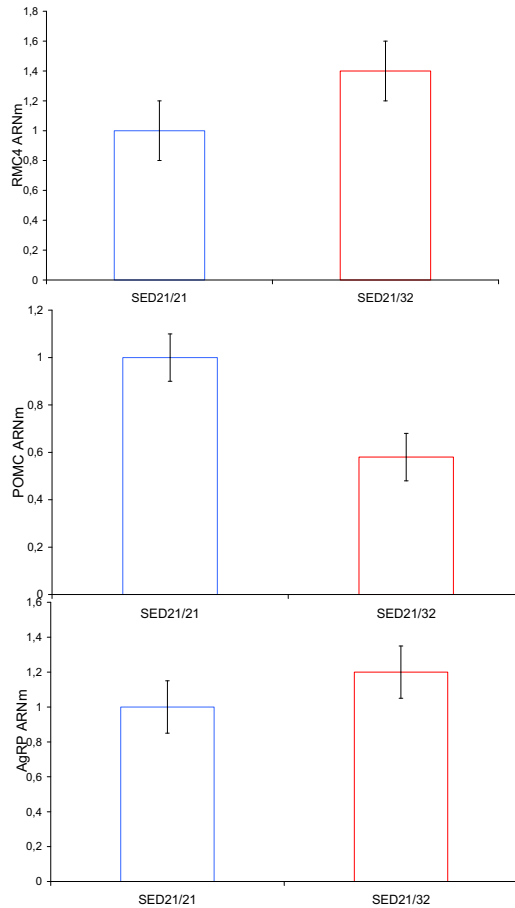


Figura 31. Receptor MC4, POMC y los niveles de AgRP ARNm en el hipotálamo para el grupo Sedentario a 21° C de temperatura (AC21/21) vs. Sedentario a 32° C (AC21/32).

*P<.05; *** P<.001.

4. Discusión

Desde la descripción moderna de la AN, la actividad física excesiva de las pacientes ha sido reconocida como un comportamiento que resulta excepcionalmente difícil de manejar para el personal sanitario (Gull, 1874). De

acuerdo con el punto de vista preponderante, la hiperactividad se concibe como un conjunto de estrategias, conscientes y voluntarias, empleadas por las pacientes para quemar calorías y bajar peso; supuesto que no ha sido de gran utilidad clínica (Gutiérrez et al., 2008). Este punto de vista está siendo progresivamente reemplazado por otro que reconoce la naturaleza neurobiológica de este comportamiento. (Casper 1998, 2006; Davis et al., 1999; Epling y Pierce, 1996).

Así, Södersten et al. (Södersten, Bergh y Zandian, 2006), han propuesto recientemente que el papel fisiológico del sistema neuroendocrino podría ser el de permitir que el individuo adopte estrategias conductuales a demanda, más que mantener la homeostasis del peso corporal, sugiriendo que el tratamiento de las pacientes anoréxicas debería dirigirse a la reducción del alto nivel de ejercicio físico para así facilitar la ingesta. También se ha propuesto que la actividad física podría ser una respuesta fisiológica a la disminución de la ingesta (Mistlberger, 1994).

Tanto la activación del sistema de melanocortinas, como la exposición simultánea a restricción de comida y libre acceso a la rueda de actividad (ABA), hace que los animales muestren hiperactividad, hipofagia, pérdida de peso corporal, hipotermia y activación del eje hipotalámico-pituitario (Hillebrand, Heinsbroek, Kas, y Adan, 2006a).

Así pues, el tratamiento con α -MSH mejora la ejecución en el procedimiento ABA, indicando la posible implicación de estos circuitos neurales en la AN (Hillebrand et al., 2005b). De hecho, con respecto a la regulación de los neuropéptidos hipotalámicos implicados en la regulación de la ingesta y el balance energético durante el desarrollo de ABA, se ha descrito un incremento de la expresión de AgRP y del neuropéptido Y (NPY), mientras que se reduce la expresión de POMC y CART en el núcleo arqueado del hipotálamo (ARC) de las ratas ABA con respecto a las ratas sedentarias con comida restringida (controles), tal y como se esperaría en un estado de balance energético negativo (de Rijke et al., 2005).

Nuestros resultados revelan que las ratas ABA a 21° C mostraron un incremento de la expresión de AgRP y una disminución en los niveles hipotalámicos de POMC ARNm, con respecto a sus homólogas sedentarias alojadas a 21° C. Estos cambios podrían representar una respuesta adaptativa para equilibrar el balance energético negativo causado por la actividad excesiva y la ingesta reducida. Además, las ratas ABA a 21° C mostraron un incremento en la expresión del receptor MC4 con respecto a las controles sedentarias a la misma temperatura, indicando que la sobreexpresión del receptor hipotalámico MC4 podría tener lugar sobre la base de las características de la hiperactividad, el rechazo a la comida y la inanición de las ratas ABA.

De hecho, se ha demostrado que la supresión de la actividad del receptor de melanocortinas mediante el tratamiento con AgRP previene las conocidas consecuencias negativas en las ratas sometidas al modelo ABA (Hillebrand et al., 2006b). En esta misma línea, otros investigadores demostraron que disminuyendo la actividad del receptor de melanocortinas también se impedía la inanición (Chen, Metzger, Trumbauer, Guan, Yu, Frazier, Marsh, Forrest, Gopal-Truter, Fisher, Camacho, Strack, Mellin, MacIntyre, Chen y van der Ploeg, 2000; Huszar, Lynch, Fairchild-Huntress, Dunmore, Fang, Berkemeier, Kesterson, Boston, Cone, Smith, Campfield, Burn y Lee, 1997).

Estos resultados concuerdan con los del estudio de Kas et al. (2003), en el que se propone que una supresión insuficiente del incremento de actividad de los receptores centrales de melanocortinas, podría contribuir a la auto-inanición en ratas sometidas a restricción de alimentación y con libre acceso a la rueda de actividad. Concretamente, estos autores mostraron que el incremento de la expresión de AgRP, y la disminución de la expresión de POMC en el modelo ABA, no fue suficiente para evitar el balance energético negativo producido por la elevada actividad del receptor hipotalámico MC4 (Kas et al., 2003). Además, no se puede descartar que el incremento en la expresión hipotalámica de AgRP inducido por la inanición, esté contribuyendo parcialmente a la sobreexpresión del receptor MC4,

debido a que un agonista inverso, como es el caso del AgRP, podría contribuir a su estabilidad en la membrana plasmática (Nijenhuis, Oosterom y Adan, 2001).

Investigaciones previas han mostrado que algunas intervenciones farmacológicas han resultado moderadamente exitosas en prevenir parcialmente el desarrollo de las consecuencias de ABA. Estos estudios se centraron en los sistemas neuroendocrinos más conocidos por su implicación en la homeostasis energética, tanto sobre las señales periféricas del hipotálamo, como en el caso de la leptina, hormona secretada por los adipocitos (Hillebrand et al., 2005c), como sobre los sistemas centrales como son los melanocortinérgicos (Hillebrand et al., 2006b; Kas et al., 2003) o los circuitos neurales serotoninérgicos (Atchley y Eckel, 2005; Deann, Atchley y Eckel, 2006; Hillebrand et al., 2006a). Por otra parte, también se ha informado de algunos efectos paradójicos, como en el caso de la administración de NPY, un péptido orexígeno que en lugar de prevenir el desarrollo del ABA, lo facilitó, incrementando la carrera, reduciendo la ingesta y agravando la pérdida de peso en las ratas (Nergårdh, Ammar, Brodin, Bergström, Scheurink, y Södersten, 2007; Södersten, Nergårdh, Bergh, Zandian y Scheurink, 2008). Estos estudios se centraron en la prevención del desarrollo de ABA mediante la administración del tratamiento o bien antes, o bien en el mismo día en que se abrían las ruedas y se limitaba el acceso a la comida a 1,5 h/día (generalmente conocido como Día 0 o línea base del peso corporal).

Sin embargo, ningún agente farmacológico ni arreglo ambiental han sido capaces de recuperar a los animales sometidos al procedimiento ABA una vez que la actividad se vuelve excesiva y la pérdida del peso excede el 20% con respecto al peso corporal inicial. En los resultados aquí presentados, y en los que Gutiérrez et al. (2006, 2008) encontraron previamente, se observó un incremento significativo del peso corporal y de la ingesta en los animales ABA expuestos a 32° C de temperatura ambiente, con respecto a los animales mantenidos a 21° C. Además, la exposición a temperatura ambiente elevada también produjo una significativa reducción de la actividad en la rueda. Estos

resultados muestran que el calor puede invertir el resultado de ABA una vez que la carrera es excesiva y la pérdida de peso considerable. Además, en los resultados de este estudio, la exposición a la temperatura ambiente elevada redujo la sobreexpresión del receptor MC4 hipotalámico y los niveles ARNm de AgRP y POMC, en las ratas sometidas al procedimiento ABA.

Sin embargo, debe de tenerse en cuenta que en el presente estudio la administración de calor no produjo cambios ni en el peso corporal ni en la ingesta de las ratas Sedentarias calentadas (SED21/32) respecto a las ratas Sedentarias alojadas a 21° C (SED21/21). Tampoco se registraron cambios en el receptor MC4, ni en la expresión de AgRP y POMC. Estos resultados muestran que aunque la exposición del calor puede reducir la sobreexpresión del receptor MC en ratas ABA, no afecta a las ratas sedentarias, que muestran un patrón hipotalámico normal de expresión del receptor de melanocortinas.

Un aspecto a tener en cuenta es que la expresión genética de POMC y AgRP generalmente produce respuestas antagónicas ante los cambios en el estado energético. Sin embargo, este aspecto no se ve reflejado en los resultados que presentamos, ya que las ratas Activas expuestas a 32° C a nivel hipotalámico mostraron una reducción tanto en la expresión genética de POMC como en la de AgRP, con respecto a las ratas Activas mantenidas a 21° C. Estos cambios podrían representar una respuesta adaptativa a la reducción de la expresión del receptor MC4 inducida por el calor, que estaba sobreexpresada en las ratas ABA. Por consiguiente, se observó una ausencia de cambios en la expresión del receptor MC4, de POMC y de AgRP en las ratas Sedentarias expuestas a temperatura ambiente elevada con respecto a las ratas Sedentarias mantenidas a 21° C. Estos resultados sugieren un efecto principal del calor sobre la sobreexpresión del receptor MC4 en ratas ABA, pero no en las ratas Sedentarias, cuya expresión del receptor MC4 no se vio alterada. De hecho, Gelegen y sus colegas (2006) demostraron que la genética, como el perfil de expresión del sistema de melanocortinas, es un parámetro importante en el control de la estrategia adaptativa a la restricción de ingesta (Gelegen, Collier, Campbell, Oppelaar y Kas, 2006).

Hasta la fecha, sólo la leptina ha sido bastante eficaz en la supresión de la Semi-inanición-Inducida por Hiperactividad (SIH), una modificación del procedimiento ABA (Exner et al., 2000). La leptina es la principal señal periférica reguladora de la homeostasis energética (Schwartz et al., 2000), reduce la ingesta de comida a través de la estimulación de POMC y de la inhibición de la expresión de AgRP (Cowley, Smart, Rubinstein, Cerdán, Diano, Horvath, Cone y Low, 2001) e incrementa el gasto energético y la termogénesis (Van Dijk, 2001). Aunque el tratamiento con leptina en ratas sometidas al procedimiento ABA disminuye la actividad, también reduce la ingesta e incrementa el gasto energético debido a la termogénesis, provocando un balance energético negativo que se traduce en una pérdida de peso (Hillebrand et al., 2005c). Así pues, debido a este impacto negativo de la leptina sobre la ingesta, la conveniencia del tratar con leptina a las ratas ABA es más que dudosa, siendo todavía mucho más cuestionable su utilización con pacientes (Hebebrand et al., 2003; Hebebrand et al., 2007).

La actividad excesiva que muestran las ratas con alimentación restringida y libre acceso a la rueda de actividad ha sido interpretada de diferentes maneras. Algunos autores proponen que se trata de un comportamiento de forrajeo (Spatz y Jones, 1971), para otros es el resultado de la activación de las vías dopaminérgicas implicadas en el refuerzo (Bergh y Södersten, 1996), e incluso se ha señalado la posibilidad de que sea una forma de auto-adicción al incremento en la secreción de opiáceos endógenos producido por la actividad en la rueda (Aravich, 1996). También se ha sugerido que la actividad excesiva en las ratas ABA es un tipo de comportamiento termorregulatorio para compensar la hipotermia producida por el programa de alimentación restringida y la pérdida de peso consecuente (Gutiérrez et al., 2002). Esta hipótesis se sustenta por una parte, en que las ratas ABA prefieren acceder a una placa caliente que a la rueda de actividad, (Hillebrand et al., 2005d), y por otra en que la temperatura ambiente elevada impide el desarrollo de ABA (Gutiérrez et al., 2006). De hecho, tanto la ingesta de comida como la termogénesis son dos procesos fisiológicos integrados que regulan el balance energético. Así pues, se ha demostrado que el AgRP puede incrementar la temperatura corporal antes de que las

ratas, expuestas a un balance energético negativo, tengan acceso a la comida (Kas et al., 2003). Además, se ha descrito que el bloqueo de los receptores de melanocortinas, mediante una infusión de SHU9119 intracerebro-ventricular, un antagonista del receptor MC4, provoca un descenso en la temperatura corporal en animales alimentados *ad libitum* (Adage, Scheurink, de Boer, de Vries, Konsman, Kuipers, Adan, Baskin, Schwartz y van Dijk, 2001), sin embargo, esto no concuerda con la prevención de la hipotermia, uno de los beneficios asociados a AgRP en la prevención del desarrollo de ABA (Hillebrand et al., 2006b). Estos hallazgos apuntan a que los efectos de las melanocortinas sobre la temperatura corporal dependen del estado alimenticio.

De modo interesante, la prevención de la hipotermia es un aspecto que ha sido mencionado en diversos estudios que han monitorizado la temperatura corporal y que han descrito tratamientos que favorecieron la supervivencia de los animales al procedimiento ABA. Este sería el caso de tratamientos con AgRP, olanzapina y leptina (Hillebrand et al, 2005a; 2005c, 2006b). Además, los animales sometidos al procedimiento ABA muestran un incremento en el comportamiento termorregulatorio cuando tienen la posibilidad de acceder a una placa caliente. Aunque la temperatura corporal no fue medida en nuestro estudio, los resultados son consistentes con la hipótesis de que la temperatura corporal es un parámetro importante en ABA, y de ahí que la hipotermia en la AN sea un aspecto importante a considerar en futuras líneas de investigación y de tratamiento.

En los resultados que acabamos de presentar, la exposición a una temperatura ambiente elevada redujo la sobreexpresión hipotalámica del receptor MC4, conduciendo a un incremento en el peso corporal y la ingesta, a una reducción de la actividad en la rueda y a la recuperación de las ratas ABA. Esta disminución en la expresión del receptor MC4, AgRP y POMC en las ratas calentadas, tiene un valioso significado translacional para el tratamiento del trastorno en humanos, sobre todo teniendo en cuenta la asociación entre la AN y el polimorfismo del gen AgRP (Dardennes, Zizzari, Tolle, Foulon, Kipman, Romo, Iancu-Gontard, Boni, Sinet, Thérèse Bluet,

Estour, Mouren, Guelfi, Rouillon, Gorwood y Epelbaum, 2007; De Krom, de Rijke, Hendriks, van Engeland, van Elburg y Adan, 2005; Vink, Hinney, van Elburg, van Goozen, Sandkuijl, Sinke, Herpertz-Dahlmann, Hebebrand, Remschmidt, van Engeland y Adan, 2001). Así, una mutación que conlleva la “pérdida de función” de un gen, podría ser la causa de la supresión defectuosa de la actividad del receptor MC4. Sin embargo, en la actualidad es inviable bloquear las señales de melanocortinas para el tratamiento de pacientes con AN, ya que sería necesario administrar estos agentes intracerebroventricularmente; aunque ya existen algunas alternativas para la administración periférica de antagonistas del receptor MC4 que están en progreso (De Boer y Marks, 2006; Markison, Foster, Chen, Brookhart, Hesse, Hoare, Fleck, Brown y. Marks, 2005). En este momento, una posible alternativa para ayudar a las pacientes es la administración de calor, lo que está siendo considerado como un nuevo elemento terapéutico en el protocolo para el manejo clínico de pacientes con AN (Bergh et al., 2002; Gutiérrez et al., 2002; Gutiérrez y Vázquez, 2001). Concretamente, fueron Gutiérrez y Vázquez (2001) los primeros en observar la desaparición de la hiperactividad, seguida de una recuperación progresiva, en pacientes a las que se les había administrado calor, un aspecto que a la luz de los resultados aquí presentados, podría indicar la implicación del sistema cerebral de melanocortinas en los efectos beneficiosos de la aplicación del calor en pacientes con AN.

Finalmente, debe tenerse en cuenta que en este estudio no se observaron cambios en las ratas Sedentarias expuestas a calor (SED21/32) con respecto a las controles Sedentarias (SED21/21), ni al analizar las variables conductuales, peso corporal e ingesta, ni en la expresión del receptor MC4, AgRP y POMC. Estos resultados muestran que aunque la exposición al calor puede reducir la sobreexpresión del receptor MC4 en ratas ABA, no afecta a las ratas Sedentarias, que muestran un patrón hipotalámico normal de expresión del receptor de melanocortinas. Este último aspecto sugiere el posible papel terapéutico de la exposición al calor en el manejo clínico de pacientes con AN, especialmente en la prevención de recaídas.

En conjunto, estos resultados demuestran por primera vez que la exposición a una temperatura ambiente elevada invierte la sobreexpresión hipotalámica del receptor MC4 en el modelo animal de la AN. En la medida en que ABA es un modelo análogo de la AN, es posible que los circuitos neurales hipotalámicos de melanocortinas estén implicados en los cambios comportamentales que tienen lugar en las pacientes con AN. Los resultados de nuestro estudio sugieren el posible papel terapéutico que podría tener la exposición al calor en el manejo clínico de pacientes con AN.

CAPÍTULO 7

Resumen, conclusiones y
líneas futuras de investigación

1. Resumen y conclusiones

En la presente Tesis Doctoral hemos mostrado en tres estudios diferentes, como la elevación de la temperatura ambiental en animales sometidos al procedimiento ABA, revierte las consecuencias que ese procedimiento experimental produce en los animales y que además han sido descritas extensamente en la literatura revisada. Esta reversión es un resultado tanto más importante teniendo en cuenta que una vez que la actividad y la pérdida de peso han alcanzado un nivel considerable, la recuperación espontánea es casi imposible. Por otra parte, en uno de los estudios se avanzó una explicación de esta reversión de ABA, en términos de los cambios moleculares en uno de los sistemas clave en la regulación del balance energético, el sistema de melanocortinas cerebral. Además, esta Tesis Doctoral incluye un estudio con animales sedentarios en el que se demuestra, especialmente en el caso de animales sometidos a restricción de comida, que en términos de regulación del peso corporal, como ya advirtiera Brobeck (1960): *“one cannot study food intake without specifying or controlling the conditions of temperature regulation”* (p. 448). Finalmente, prácticamente todos los estudios incluidos en la presente Tesis Doctoral ya han sido publicados en revistas científicas especializadas.

De forma más detallada, enumeramos las siguientes conclusiones de los estudios realizados:

1. La elevación de la TA reduce significativamente, tanto en machos como en hembras, la actividad en las ratas expuestas a ABA.
2. La elevación de la TA trunca significativamente, tanto en machos como en hembras, la tendencia decreciente en la pérdida de peso, típica de los animales expuestos a ABA a temperatura estándar.

3. La elevación de la TA, facilitó la ingesta para todos los animales expuestos a ABA, un resultado más marcado en el caso de las hembras.
4. La elevación de la TA, fue un elemento neutralizador del efecto de "self-starvation", descrito por Epling et al. (1983), permitiendo que la ingesta de los animales expuestos a ABA alcanzara el nivel mostrado por los animales Sedentarios.
5. Debido a todos estos cambios y frente a una tasa de retirada del 100% de las ratas expuestas a ABA, a TA estándar, la elevación de la TA permitió la recuperación completa de todos los animales expuestos a ABA, salvo en el caso de un macho que no llegó a alcanzar la recuperación completa.
6. Frente a la facilitación de la ingesta descrita en los puntos 3 y 4, la elevación de la TA tendió a inhibir la ingesta en los animales Sedentarios del grupo de control, solo significativa en el caso de los machos.
7. La inhibición de la ingesta en los animales Sedentarios del grupo de control, provocada por la elevación de la TA, no tuvo una repercusión negativa en su peso corporal, que se situó al mismo nivel que el de los animales sedentarios mantenidos a temperatura estándar con una mayor ingesta.
8. La inhibición de la ingesta en los animales Sedentarios sometidos a restricción de comida, se evidenció en un estudio específico realizado únicamente con animales Sedentarios, que mostró una reducción de la ingesta tanto en los machos (10%) como en las hembras sedentarias (20%) a 32° C, con respecto a los animales a 21° C.

9. La inhibición de la ingesta, debida a la elevación de la TA, en los animales Sedentarios sometidos a restricción de comida, no tuvo una repercusión negativa sobre el peso, ya que todos los animales alojados a 32° C ganaron peso independientemente de la cantidad de comida que recibieran.
10. La elevación de la TA en animales Sedentarios con alimentación ad libitum también provocó una disminución en la ingesta, como ya había descrito Brobeck (1948), del 30% para machos y del 20% para las hembras.
11. La disminución en la ingesta provocada por la elevación de la TA observada en los animales Sedentarios con alimentación ad libitum, en comparación con los animales a TA estándar, no frenó la ganancia de peso para las hembras, pero si en el caso de los machos que ganaron significativamente menos peso y a un ritmo más lento.
12. En general, tanto para los animales expuestos a ABA, como para los animales Sedentarios, a pesar del dimorfismo sexual que se manifiesta en ocasiones, la elevación de la TA tuvo un efecto beneficioso sobre el peso de los animales, en comparación con los que se mantuvieron a una TA estándar.
13. La elevación de la TA tuvo efectos a nivel hipotalámico en el sistema de melanocortinas, específicamente en los animales calentados expuestos a ABA. La elevación de la TA invirtió la sobreexpresión de los receptores MC4, AgRP, y POMC.
14. La elevación de la TA en los animales Sedentarios no tuvo los efectos observados en los animales calentados expuestos a ABA, ni en la expresión del receptor MC4, ni en la de su antagonista (AgRP), ni en la del precursor (POMC) de su agonista fisiológico, α -MSH.

15. Estos cambios referidos al sistema de melanocortinas solo se estudiaron en ratas macho.

Estas conclusiones necesariamente tienen que valorarse con respecto a la investigación existente hasta la fecha con respecto a la reversión de ABA. Así, sólo dos manipulaciones han ayudado a las ratas a recuperarse del modelo ABA, pero han tenido efectos opuestos sobre la actividad y la ingesta. Por un lado, el cambio de una dieta estándar a una dieta rica en grasas ha sido útil para invertir la pérdida de peso, pese a provocar un aumento de actividad en la rueda (Brown et al., 2008). Por otro lado, la administración de leptina en una variante del procedimiento ABA, consiguió reducir la actividad en la rueda (Exner et al., 2000), con la contrapartida de disminuir también la ingesta (Hillebrand et al., 2005c).

2. Implicaciones para el tratamiento de la Anorexia Nerviosa

Al comienzo de esta tesis comentábamos que desde el año 2001 se han publicado más de 3.500 artículos sobre anorexia nerviosa, sin embargo ninguno de ellos ha significado un avance en la eficacia de los tratamientos (Ioakimidis et al., 2009). Lamentablemente, el efecto de la medicación es marginal, asociándose incluso con una mayor tasa de abandono del tratamiento (Halmi, 2009; Bulik et al., 2007) y si la eficacia de los tratamientos farmacológicos es limitada, otro tanto se puede afirmar de los tratamientos psicológicos (Fairburn, 2005; McIntosh et al., 2005).

En general, cuando la pérdida de peso supone un riesgo para la vida de la paciente, los protocolos indican el ingreso hospitalario, tras el cual el 50% de pacientes presenta una recaída durante el primer año después de la hospitalización. Aunque a corto plazo estos programas alcanzan los objetivos de restablecimiento de peso, su éxito es muy limitado en cuanto al cambio de actitudes hacia el peso corporal y a la normalización del comportamiento alimentario (Attia y Walsh, 2009).

En la actualidad la preocupación por la figura y el peso son supuestos centrales en la concepción del trastorno que, junto con las alteraciones de la imagen corporal, motivan el diagnóstico de anorexia nerviosa según el DSM-IV (APA, 2000). La aceptación de esta sintomatología como un elemento esencial de la anorexia nerviosa, provoca reticencias en parte de la comunidad científica para aceptar planteamientos que provienen de la investigación con modelos animales, ya que cualquier modelo animal es una aproximación defectuosa de una parte esencial del trastorno.

Es obvio que la ausencia de capacidades cognitivas y de simbolización, propias de los seres humanos, es la mayor limitación de cualquier modelo animal que intente reproducir un fenómeno en el que la libertad, la voluntad, la personalidad y la presión social vertebran el trastorno humano. En este mismo sentido, los modelos animales son muy limitados a la hora de reproducir el entorno familiar y mucho menos el trasfondo sociocultural donde se desarrolla el trastorno, en el que se incluyen los ideales de belleza (Coscina y Garfinkel, 1991).

Sin embargo, esas limitaciones no invalidan la utilidad de los modelos animales, como el modelo ABA, cuando éstos son considerados como una analogía del trastorno. Además, la carga de la prueba no solo debe situarse en el examen de la idoneidad del modelo, sino también en el propio estatuto de “verdad” de la concepción misma del trastorno en un momento dado. Nadie más reputado que el propio Ramón y Cajal para señalar que las teorías, que en un momento determinado son abrazadas por gran parte de la comunidad científica, serán puestas en duda sin tardar mucho tiempo:

Fiarlo todo al éxito de una concepción vale tanto como ignorar que cada quince o veinte años se renuevan las teorías. ¡Qué de hipótesis, al parecer definitivas, no han caído ruidosamente en física, en química, en geología, en biología, etc., durante los últimos lustros! (Ramón y Cajal, 1982, p. 87).

Así por ejemplo, aun siendo cierto que el modelo ABA no es adecuado para reproducir síntomas como la fobia a la grasa o las preocupaciones por el

peso, hay algunas evidencias que comienzan a poner en duda la relevancia de tales características, ya que quizás sean cambios en la moderna fenomenología de la anorexia nerviosa típica de las pacientes (y los profesionales) en la "cultura occidental" (Fairburn, Shafran y Cooper, 1999). En primer lugar, dos líneas de evidencia apoyan esta perspectiva:

- Por un lado esas preocupaciones no han formado parte de la psicopatología de los casos aparecidos en la literatura histórica, siendo improbable que hubieran sido pasadas por alto, dada la riqueza de las descripciones clínicas, como recoge Fairburn (1998): *"it seems unduly arrogant for us to assume that they missed such important observations"* (p. 8).
- Por otro lado las observaciones de clínicos en países en vías de desarrollo, documentan la ausencia de esas preocupaciones (Keel y Klump, 2003; Lee, 2001).

Tomadas en conjunto, estas observaciones sugieren que las preocupaciones por la forma y el peso pueden no ser una característica esencial de la anorexia. De hecho, históricamente averiguar el motivo subyacente a la privación de comida no fue nunca una tarea fácil para los médicos, como ya señalara Berkman: *"On being questioned as to the cause of the anorexia, most of the patients are unable to express an opinion, or will not do so"* (Berkman, 1930, p. 412), y generalmente estos motivos han tenido más que ver con el *"psychiatrist zeal in searching out motives"* (Kay y Leigh, 1954, p. 413), que con la existencia independiente de esas preocupaciones en la propia paciente. No obstante, sigue siendo una cuestión sin resolver si los motivos que presenta el DSM-IV para explicar el rechazo a la comida, están en la mente de las pacientes (Habermas, 2005), o si el *"fear of gaining weight and an horror to becoming fat"* (Du Bois, 1949, p.109) han sido el resultado de un lento proceso de aculturación, alcanzado ora a través de los medios de

comunicación, ora en el mismo entorno terapéutico, tal y como se detalla en el siguiente fragmento:

The most interesting clinical observation that we could add here relates to the effect of placing such individuals in a group therapy treatment program primarily attended by women with classical North American anorexia nervosa. The inevitable outcome seems to be that over the course of 2 months the women of Chinese or Indian origin acculturate to the dominant culture of the program, gradually abandoning their original rationale for food avoidance and developing a fear of fatness, a drive for thinness, and body image distortion! It is of course not certain that this represents an improvement, although it does allow for a more homogeneous group (Woodside y Twose, 2004, p. 13).

En segundo lugar, ciertos síntomas observables en la anorexia nerviosa tales como, el sentido de vitalidad, la irritabilidad, el pensamiento obsesivo, la depresión, la ansiedad, la disminución de la libido y la sensación de ineficacia personal, pueden considerarse como consecuencias del estado de inanición asociado al trastorno, como se demostró en el estudio Minnesota llevado cabo por Keys, et al. (1950).

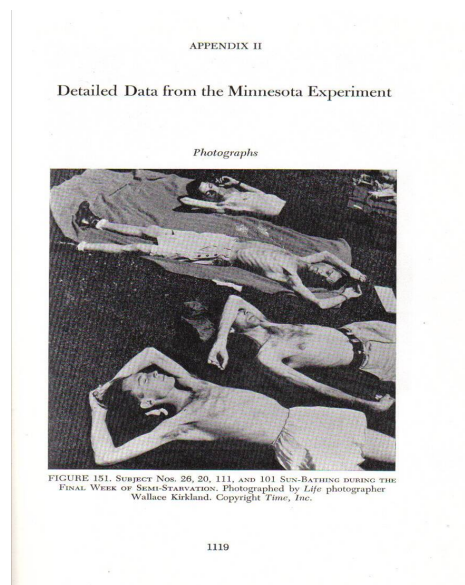


Figura 32. Fotografía tomada del apéndice del libro *"The biology of human starvation"* (Keys, Brozek, Henschel, Mickelsen y Taylor, 1950).

En este estudio como ya hemos señalado en el primer capítulo, treinta y seis hombres jóvenes y sanos se ofrecieron voluntariamente a perder 25% de su peso corporal. La progresiva pérdida de peso se acompañó de extraños rituales, como cortar la comida en trozos pequeños, comer chicles, además de un creciente interés por la cocina, llegando a coleccionar utensilios y recetas de cocina (Franklin et al., 1948). Durante la fase de restricción calórica, los voluntarios además de sufrir insomnio, se quejaron de tener las manos y los pies fríos, mostrando una gran tolerancia al calor, y buscando afanosamente fuentes de calor, como se aprecia en la fotografía tomada durante la última semana del periodo de restricción de comida (Véase Figura 32). En muchas pacientes hospitalizadas se observa este mismo comportamiento y esta “adicción a tomar el sol a todas horas” (Vähäsöini, Vázquez, Birmingham y Gutierrez, 2004).

En tercer lugar, cada vez con más frecuencia en la literatura, se reconoce que el contexto cultural de la idealización de la delgadez proporciona una explicación demasiado sencilla de los trastornos de la alimentación. Este cuestionamiento de la internalización de la delgadez suele ir acompañado de un cuestionamiento también de la supuesta naturaleza volitiva del trastorno. Estos cuestionamientos están presentes por ejemplo en la afirmación que Striegel-Moore y Bulik (2007) realizan al reconocer que: *For decades, our patients with anorexia nervosa have said: “it’s not about looking like a model”* (p. 193). Precisamente el testimonio de una paciente ilustra este replanteamiento, del tan extendido supuesto, de que la anorexia nerviosa es un trastorno de la imagen corporal, causado por la insatisfacción con el propio cuerpo (Zanker, 2009):

I possessed sufficient insight to recognise that my AN was neither caused nor sustained by distorted ‘body image’, body dissatisfaction or the desire for a very thin body. I did not restrict food and exercise in an obsessive, ritualistic way because I was trying to correct my physical appearance (p. 328).

Como vimos en el primer capítulo, los objetivos de los tratamientos que las pacientes con anorexia nerviosa han recibido a lo largo de la historia eran una extensión lógica de la concepción del trastorno (Mayer, 1963). Pero, tal y

como afirma Halmi, con respecto a la concepción actual: *“Etiological hipótesis of... anorexia nervosa...have not produced informative research for predictably effective treatments”* (Halmi, 2009, p. 163).

Así pues, y retomando el asunto de la significación de la investigación con modelos animales, la investigación con el modelo ABA ofrece una perspectiva nueva de los signos, no de los síntomas, más objetivos de la AN, según la cual la actividad excesiva debería ser considerada como una respuesta bio-conductual ante las consecuencias fisiológicas de la pérdida de peso inicial, y no tanto como una estrategia voluntaria para quemar calorías (Casper, 2006; Gutiérrez et al., 2002; Gutiérrez et al., 2008). Así, la interacción entre dieta y ejercicio en el modelo animal, es una herramienta útil para entender este perfil hiperactivo en la AN, que ha sido registrado ininterrumpidamente a lo largo de la historia.

Por lo tanto, teniendo en cuenta que la hiperactividad en la AN: a) constituye una amenaza directa para la ganancia y el mantenimiento del peso, b) que además del gasto energético asociado al sostenimiento de la actividad, la hiperactividad tiene un efecto inhibitor sobre el apetito y, c) se encuentra fuertemente asociada con la ansiedad en los pacientes hospitalizados; sería un éxito encontrar una estrategia eficaz para combatir la hiperactividad.

Por otra parte, aunque el planteamiento inicial de la parte experimental era que la aplicación de calor podría ser una estrategia útil para el manejo de la hiperactividad (Gutiérrez y Vázquez, 2002), los resultados nos condujeron a una posibilidad inexplorada hasta ahora, como es que la administración de calor también podría beneficiar a las pacientes que no son hiperactivas. Quizás el mero hecho de elevar la temperatura de las unidades de hospitalización durante el proceso de recuperación de peso, permitiría administrar a las pacientes una suplementación calórica menor. A primera vista esta idea puede parecer descabellada, sin embargo, no debemos pasar por alto que, como mencionamos más atrás, las pacientes tienen dificultades para aumentar de peso durante la rehabilitación nutricional a pesar de realizar una ingesta calórica elevada (Kaye, et al., 1986) y que aproximadamente un tercio de las

calorías ingeridas no puede ser procesada por las pacientes (Moukaddem et al.,1997; Russell et al.,1998). Mención aparte merecen todos los efectos secundarios asociados a este proceso de recuperación de peso, que contribuyen a aumentar aun más la ansiedad de las pacientes (Rigaud et al., 2007).

Al margen de la evidencia experimental de naturaleza pre-clínica que hemos generado en la presente Tesis Doctoral, otras evidencias apuntan en la misma dirección, el efecto beneficioso de un mayor gradiente térmico. Una prueba de este efecto beneficioso proviene de la observación realizada por Favaro y Santonastaso (2009) de que las pacientes durante la primavera o el verano necesitan un promedio de 2 kilos menos para recuperar la menstruación. Aunque no pueden descartarse otras explicaciones como afirman los autores, esta diferencia en la recuperación del ciclo menstrual durante las estaciones más cálidas, quizás no tenga tanto que ver con la dieta, como con el aumento de la temperatura ambiente. Estos datos sugieren que la temperatura ambiente se asocia con cambios neuroendocrinos específicos en las pacientes con anorexia nerviosa.

Esta asociación de las estaciones más cálidas con un mejor curso de la enfermedad, quizás no sea más que un ejemplo concreto de una regla más general que ha pasado inadvertida y que se manifiesta en la incidencia diferencial de la anorexia nerviosa y la latitud geográfica, como demostró un estudio bibliométrico que reveló que el 72% las publicaciones sobre anorexia nerviosa se concentraron en el hemisferio norte, concretamente en el rango 40°-55° (Vázquez et al., 2006).

Esta reconsideración del papel modulador de la temperatura y de la latitud geográfica sobre la anorexia nerviosa, tiene un temprano precedente en la afirmación aparecida en el editorial de The Lancet una semana después de que William Gull publicara su último artículo, poco antes de morir: *"Most of the cases seem to occur in the colder months of the year, and possibly this may be more than a coincidence"* (Anonymus, 1888. p. 584).

Desde que William Gull acuñó el trastorno, las pacientes han recibido diferentes tratamientos, no obstante una de las recomendaciones del propio Gull fue: *“to supply external heat as well as food to patients”* (Gull, 1874, p. 24), además de manejar a la paciente con cierta autoridad moral y administrar comida a intervalos regulares como señalamos en el primer capítulo. Una recomendación que, por otra parte, estaba basada en los estudios animales del fisiólogo suizo Charles Chossat, en los que había documentado los efectos curativos que tenía la aplicación de calor en los animales sometidos a inanición, concretamente en palomas (Chossat, 1843).

Por tanto, los resultados descritos en la presente Tesis Doctoral no solo apuntan a la necesidad de dedicar una mayor atención a la temperatura ambiente, sino que ya suponen una base experimental y un apoyo directo a los primeros ensayos clínicos aleatorizados, en los que el calor se introdujo como un elemento terapéutico adyuvante al tratamiento de los pacientes con AN (Bergh et al., 2002; Birmingham et al., 2004).

Quizás esta conexión entre pasado y presente, pueda en el futuro llegar a suponer un avance en el tratamiento de la anorexia nerviosa, para lo que: *“It is important that we should all have an open mind to the possibility that one of the main tenets of our practice may actually be unhelpful”* (Lask y Framptom, 2009, p.165).

3. Líneas futuras de investigación

El desarrollo experimental de esta tesis, constituido por cuatro estudios llevados a cabo en el periodo comprendido entre el 2007-2010, plantea nuevas preguntas tanto con respecto a la investigación con el propio modelo animal de Anorexia Basada en la Actividad, como desde una perspectiva translacional. Por ejemplo, una primera línea de trabajo sería el intento de replicación en hembras de los cambios moleculares encontrados en el hipotálamo de los machos, lo que sin duda mejoraría la robustez de los cambios cerebrales encontrados en éstos. Por otra parte, esta investigación sobre el sistema de

melanocortinas, sería sólo el comienzo de una serie de estudios que se podrían centrar en otros sistemas claves en la regulación del balance energético, como sería por ejemplo el sistema canabinoide.

En este sentido, sin duda es importante tener en cuenta la posibilidad de que la estrategia que hemos empleado para revertir ABA, modificando un parámetro ambiental (aumento de TA), haya afectado no sólo al sistema de melanocortinas, sino que haya acabado afectando de una manera orquestada, como mínimo, a otros sistemas neuromoduladores que regulan la homeostasis energética. Esta estrategia difiere de la convencional que suele ser de "dentro hacia fuera", que pretende cambiar el medio interno, con el objetivo de alterar el comportamiento de los animales mientras que el entorno permanece constante. Debido a la naturaleza integrada y no lineal de los neurocircuitos que regulan la homeostasis energética, la acción sobre receptores de poblaciones neuronales discretas, bien por medio de la estimulación eléctrica, o mediante la administración intracerebroventricular de agonistas o antagonistas, se vería con toda probabilidad compensada por otros sistemas de control redundantes, además de por el estado fisiológico general. Así pues, lo ideal para futuras líneas de investigación sería realizar un diálogo cruzado entre estas dos estrategias ya que podrían ayudar a revelar la jerarquía de los cambios necesarios y suficientes que permiten la recuperación en los animales sometidos al procedimiento ABA y al borde de la muerte.

También, además de la regulación del peso corporal, o de las repercusiones de la elevación de la TA sobre el eje HPA, dada la asociación encontrada por Favaro y Santonastaso (2008) entre temperatura ambiente y ciclo menstrual en las pacientes, sería interesante estudiar este efecto del calor sobre el eje Hipotálamo-pituitario-gonadal (HPG) en las ratas. Las hembras cuando son sometidas al procedimiento ABA muestran alteraciones en su ciclo estral, y sería interesante observar los cambios que el calor produce en el eje HPG y sobre la recuperación de los ciclos estrales en las ratas.

Finalmente, dadas las implicaciones que los resultados con el modelo ABA tienen para el tratamiento de la anorexia nerviosa, queremos aludir a alguna de las posibles líneas de investigación que se podrían desarrollar en el ámbito clínico. Así, sería interesante determinar los efectos terapéuticos de la aplicación de calor sobre la hiperactividad, la ingesta, la recuperación de peso y la psicopatología en pacientes con anorexia nerviosa (AN), incluyendo el análisis de los efectos inmediatos, a corto plazo, tanto psicológicos como hormonales, durante la fase inicial de realimentación. Esta línea de investigación aparte de ser interesante, permitiría mejorar el tratamiento que se lleva a cabo en las unidades de hospitalización y quizás mejoraría la satisfacción de las pacientes con el tratamiento y su efecto final sobre la tasa de recaídas.

Además de ensayos clínicos más o menos costosos, o de la investigación en la vertiente molecular, también es importante no perder de vista otras opciones de investigación empírica, como sería el estudio retrospectivo del curso de la enfermedad, la ganancia de peso durante las estaciones más cálidas, o las repercusiones puntuales de los cambios de temperatura propios de cambios meteorológicos bruscos sobre el estado psicológico de las pacientes.

A la vuelta de unos cuantos años, esta investigación nos permitiría poder reconsiderar, en uno u otro sentido, la relevancia del modelo ABA en la anorexia nerviosa.

En Santiago de Compostela, a 18 de Junio de 2010 (15:17 GJ)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbate-Daga, G., Gianotti, L., Mondelli, V., Quartesan, R. y Fassino, S. (2004). The psychopharmacotherapy of anorexia nervosa: clinical, neuroendocrine and metabolic aspects. *Journal of Endocrinological Investigation*, 27, 975-981.
- Adage, T., Scheurink, A. J., de Boer, S. F., de Vries, K., Konsman, J. P., Kuipers, F., Adan, R. A., Baskin, D. G., Schwartz, M. W. y van Dijk, G., (2001). Hypothalamic metabolic and behavioral responses to pharmacological inhibition of CNS melanocortin signaling in rats. *Journal of Neuroscience*, 21, 3639-3645.
- Adams, K. L., Parfeniuk, G. G. y Eikelboom R. (2009). Chlorpromazine specifically prevents the wheel-induced feeding suppression in rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 93, 470-473.
- Adan, R. A., Cone, R. D., Burbach, J. P. y Gispen, W. H. (1994). Differential effects of melanocortin peptides on neural melanocortin receptors. *Molecular Pharmacology*, 46, 1182-1190.
- Adan, R. A., Hillebrand, J. J., De Rijke, C., Nijenhuis, W, Vink, T., Garner, K. M. y Kas M. J. (2003). Melanocortin system and eating disorders *Annals of the New York Academy of Sciences*, 994, 267-274.
- Adan, R. A. H., Tiesjema, B., Hillebrand, J. J. G., la Fleur, S. E., Kas, M. J. H., y de Krom, M. (2006). The MC4 receptor and control of appetite. *British Journal of Pharmacology*, 149, 815-827.
- Agras, W. S. y Robinson, A. H. (2008). Forty years of progress in the treatment of the eating disorders. *Nordic Journal of Psychiatry*, 62, 19-24.
- Agras, W. S., Walsh, T., Fairburn, C. G., Wilson G. T. y Kraemer, H. C. (2000). A multicenter comparison of cognitive-behavioral therapy and interpersonal psychotherapy for bulimia nervosa. *Archives of General Psychiatry*, 57, 459-466.
- Alexander, G. (1939). Anorexia nervosa. *The Rhode Island Medical Journal*, 12, 189-195.
- Allison, R. S. y Davies R. P. (1931). The treatment of functional anorexia nervosa. *Lancet*, 217, 902-907.

- Alonso, V. M. y Eikelboom, R. (2003). Relationship between wheel running, feeding, drinking and body weight in male rats. *Physiology & Behavior*, 80, 19-26.
- Altamus, M., Glowa, J. R., Galliven, E., Leong, Y. y Murphy, D. L. (1996). Effects of serotonergic agents on food-restriction-induced hyperactivity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 53, 123-131.
- American Psychiatric Association. (2000). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4a. ed. rev.). Washington, DC: APA.
- Anonymus. (1888). Sir William Gull on Anorexia Nervosa [editorial]. *Lancet*, 1, 583-584.
- Aravich, P. F. (1996). Adverse effects of exercise stress and restricted feeding in the rat: Theoretical and neurobiological considerations. In W. F. Epling y W. D. Pierce, (Eds.), *Activity Anorexia. Theory, Research, and Treatment*. Lawrence Erlbaum Associates, New Jersey, pp. 81-97.
- Aravich, P. F., Rieg, T. S., Lauterio, T. J. and Doerries, L. E., (1993). Beta-endorphin and dynorphin abnormalities in rats subjected to exercise and restricted feeding: relationship to anorexia nervosa. *Brain Research*, 622, 1-8.
- Arun, C. P. (2008). Drive for leanness, anorexia nervosa, and overactivity: The missing link. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1148, 526-529.
- Atchley, D. P. y Eckel, L. A. (2005). Fenfluramine treatment in female rats accelerates the weight loss associated with activity-based anorexia. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 80, 273-279.
- Atchley, D. P. y Eckel, L. A. (2006). Treatment with 8-OH-DPAT attenuates the weight loss associated with activity-based anorexia in female rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 83, 547-553.
- Attia, E., Haiman, C., Walsh, B. T. y Flater, S. R. (1998). Does fluoxetine augment the inpatient treatment of anorexia nervosa? *American Journal of Psychiatry*, 155, 548-551.
- Attia, E. y Walsh B. T. (2009). Behavioral management for anorexia nervosa. *New England Journal of Medicine*, 360, 500-506.

- Bachrach, A., Erwin, W. J. y Mohr, J. P. The Control of Eating Behavior in an Anorexic by Operant Conditioning Techniques. En L. Ullmann y L. P. Krasner [Eds.], "Case Studies in Behavior Modification." New York: Holt, Rinehart, and Winston, 1965, pp. 153-163.
- Baile, C. A., Della-Fera, M. A. y Martin, R. J. (2000). Regulation of metabolism and body fat mass by leptin. *Annual Reviews of Nutrition*, 20, 105-127.
- Baker, R. R. (1978). *The evolutionary ecology of animal migration*. Hodder y Stoughton, London.
- Barboriak, J. J. y Wilson A. S. (1972). Effect of Diet on Self-starvation in the Rat, *Journal of Nutrition*, 102, 1543-1546.
- Barboriak, J. J., Wilson, A. S., Schulte, W. J. y Knoblock H. W. J. R. (1972). Running Activity and Gastric ulcers in the rat. *Experimentia*, 28, 1179-1180.
- Baumeister, A., Hawkins, W. F. y Cromwel, R. L. (1964). Need states and activity levels. *Psychological Bulletin*, 61, 438-453.
- Belke, T. W. (1996). The effect of a change in body weight on running and responding reinforced by the opportunity to run. *Psychological Record*, 46, 421-433.
- Bemis, K. M. (1978). Current approaches to the etiology and treatment of anorexia nervosa. *Psychological Bulletin*, 85, 593-617.
- Ben-Tovim D. I., Walker K., Gilchrist P., Freeman R., Kalucy R. y Esterman A. (2001). Outcome in patients with eating disorders: a 5-year study. *Lancet*, 21, 1254-1257.
- Bergh, C., Brodin, U., Lindberg, G. y Södersten, P. (2002). Randomized controlled trial of a treatment for anorexia and bulimia nervosa. *Proceedings of The National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 9486-9491.
- Bergh, C., Osgood, M., Alters, D., Maletz, L., Leon, L. y Södersten, P. (2006). How effective is family therapy for the treatment of for the treatment of anorexia nervosa? *European Eating Disorders Review*, 14, 371-373.
- Bergh, C. y Södersten, P. (1996). Anorexia nervosa, self-starvation and the reward of stress. *Nature Medicine*, 2, 21-22.

- Berkman, J. M. (1930). Anorexia Nervosa, Anorexia, Inanition, and Low Basal Metabolic Rate. *American Journal of the Medical Sciences*, 180, 411-424.
- Berkman, J. M. (1939). Functional anorexia and functional vomiting: Their relation to anorexia nervosa. *Medical Clinics of North America*, 23, 901-912.
- Berkman, J. M. (1944). Anorexia Nervosa: The diagnosis and treatment of inanition resulting from functional Disorders. *Annals of Internal Medicine*, 22, 679-691.
- Berkman, J. M. (1948). Anorexia nervosa, anterior-pituitary insufficiency, Simmonds' cachexia, and Sheehan's disease. *Postgraduate Medicine*, 3, 237-246.
- Berkman N., Lohr K. N. y Bulik C. (2007). Outcomes of eating disorders: a systematic review of the literature. *International Journal of Eating Disorders*, 40, 293-309.
- Beumont, P. J. V. (1984). A clinician looks at animals models of anorexia nervosa. En N. W. Bond (Ed.), *Animal Models of Psychopathology* (pp: 177-210). Academic Press: Sydney
- Beumont, P. J. V. (1998). The behavioural disturbance, psychopathology, and phenomenology of eating disorders. En H. W. Hoek, J. L. Treasure y M. A. Katzman (Eds.), *Neurobiology in the treatment of Eating Disorder* (pp. 27-46). Chichester, England: Wiley.
- Bhanji, S. y Thompson, J. (1974). Operant conditioning in the treatment of anorexia nervosa: a review and retrospective study of 11 cases. *British Journal of Psychiatry*, 124, 166-172.
- Birmingham, C. L. y Beumont, P. (2004). Medical management of eating disorders: A Practical Handbook for Health Care Professionals. Cambridge: Cambridge University Press.
- Birmingham, C. L., Gutierrez, E., Jonat, L. y Beumont, P. (2004). Randomized controlled trial of warming in anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 35, 234-238.

- Birmingham, C. L., Su, J., Hlynsky, J. A., Goldner, E. M. y Gao, M. (2005). The mortality rate from anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 38, 143-146.
- Blinder, B. J., Freeman, D. y Stunkard, A. J. (1970). Behavior therapy of anorexia nervosa: effectiveness of activity as a reinforcer of weight gain. *American Journal of Psychiatry*, 126, 1093-1098.
- Blitzer, J. R., Rollins, N. y Blackwell, A. (1961). Children Who starve themselves. *Psychosomatic Medicine*, 23, 369-383.
- Blundell, J. E. y King, N. A. (2000). Exercise, appetite control, and energy balance. *Nutrition*, 16, 519-522.
- Boakes, R. A. (2007). Self-Starvation in the Rat: Running versus Eating. *The Spanish Journal of Psychology*, 10, 251-257.
- Boakes, R. A. y Dwyer, D. M. (1997). Weight loss in rats produced by running: Effects of prior experience and individual housing. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 50B, 129-148.
- Boakes, R. A. y Juraskova, I. (2001). The role of drinking in the supresión of food intake by recent activity. *Behavioral Neuroscience*, 115, 718-731.
- Boakes, R. A., Mills, K. J. y Single, J. P. (1999). Sex differences in the relationship between activity and weight loss in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 113, 1080-1089.
- Bolles, R. C. y Duncan, P. M. (1969). Daily course of activity and subcutaneous body temperature in hungry and thirsty rats. *Physiology and Behavior*, 4, 87-89.
- Bond, D. D. (1949). Anorexia nervosa. *Rocky Mountain Medical Journal*, 46, 1012-1019.
- Brambilla, F., Monteleone, P. y Maj, M. (2007). Olanzapine-induced weight gain in anorexia nervosa: Involvement of leptin and ghrelin secretion? *Psychoneuroendocrinology*, 32, 402-406.
- Brobeck J. R. (1945). Effects of variations in activity, food intake and environmental temperature on weight gain in the albino rat. *American Journal of Physiology*, 143, 1-5.

- Brobeck J. R. (1960). Food and temperature. En G. Pincus (Ed.), *Recent progress in hormone research* (pp.439-459). New York: Academic
- Brobeck, J. R. (1948). Food intake as a mechanism of temperature regulation. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 20, 545-552.
- Broocks, A., Liu, J. y Pirke, K. M. (1990). Semistarvation-induced hyperactivity compensates for decreased norepinephrine and dopamine turnover in the mediobasal hypothalamus of the rat. *Journal of Neural Transmission*, 79, 113-124.
- Broocks, A., Schweiger, U. y Pirke, K. M. (1990). Hyperactivity aggravates semistarvation-induced changes in corticosterone and triiodothyronine concentrations in plasma but not luteinizing hormone and testosterone levels. *Physiology & Behavior*, 48, 567-569.
- Broocks, A., Schweiger, U. y Pirke, K. M. (1991). The influence of semistarvation induced hyperactivity on hypothalamic serotonin metabolism. *Physiology and Behavior*, 50, 385-388.
- Brown, A. J., Avena, N. M. y Hoebel, B. G. (2008). A high-fat diet prevents and reverses the development of activity-based anorexia in rats. *International Journal of Eating Disorders*, 41, 383-389.
- Bruch, H. (1961). Conceptual confusion in eating disorders. *Journal of nervous and Mental Disease*, 133, 46-54.
- Bruch, H. (1962). Perceptual and conceptual disturbances in anorexia nervosa. *Psychosomatic Medicine*, 24, 187-194.
- Bruch, H. (1966). Anorexia nervosa and its differential diagnosis. *Journal of Nervous and Mental Disease*, 141, 555-556.
- Bruch, H. (1969). Hunger and instinct. *Journal nervous and Mental Disease*, 149, 91-114.
- Bruch, H. (1970). Psychotherapy in primary anorexia nervosa. *Journal of Nervous and Mental Disease*, 150, 51-67.
- Bruch, H. (1973). *Eating Disorders: Obesity, anorexia nervosa and the person within*. New York: Basic Books.

- Bruchner, W. J., Wies, C. H. y Laviertes, P. H. (1938). Anorexia nervosa and pituitary caquexia. *American journal of Medicine*, 196, 663-672.
- Brumberg, J. J. (1988). *Fasting girls. The history of Anorexia Nervosa*. Cambridge, M. A.: Harvard University Press.
- Bulik C. M., Berkman N. D., Brownley K. A., Sedway J. A. y Lohr K. N. (2007). Anorexia nervosa treatment: A systematic review of randomized controlled trials. *International Journal Eating Disorders*, 40, 321-336.
- Bulik, C. M., Sullivan, P. F. y Kendler, K. S. (2000). An empirical study of the classification of eating disorders. *American Journal of Psychiatry*, 157, 886-895.
- Butler, A. A. (2006). The melanocortin system and energy balance. *Peptides*, 27, 281-290.
- Butlin, A. (1978). An investigation of the running anorexia weight loss syndrome in the female rat. Tesis de maestría no publicada, Unpublished B.Sc. Honours Thesis. Sydney, Australia: School of Psychology, University of New South Wales.
- Button E. J., Chadalavada B. y Palmer R. L. (2010). Mortality and predictors of death in a cohort of patients presenting to an eating disorders service. *International Journal of Eating Disorders* , 43, 387-392.
- Byford, S., Barret, B., Roberts, C., Clark, A., Edwards, V., Smethurst, N. y Gowers, S. (2007). Economic evaluation of a randomised controlled trial for anorexia nervosa in adolescents. *British Journal of Psychiatry*, 191, 436-440.
- Cachelin, R. M. y Maher, B. A. (1998). Is amenorrhea a critical criterion for anorexia nervosa? *Journal of Psychosomatic Research*, 44, 435-440.
- Calhoun, J. B. (1962). *The ecology and sociology of the Norway rat*. Betheseda, MD: U. S. Department of Health, Education and Welfare, Publication Health Service.
- Campbell, P. G. (1995). What would a causal explanation of the eating disorders look like? En G. Szmuckler, C. Dare y J. Treasure (Eds.),

- Handbook of eating disorders: Theory, treatment and research* (pp. 49-64). Chichester, England: Wiley.
- Campbell, B. A. y Lynch, G. S. (1967). Activity and thermoregulation during food deprivation in the rat. *Physiology & Behavior*, 2, 311-313.
- Campbell, B. A. y Lynch, G. S. (1968). Influence of hunger and thirst on the relationship between spontaneous activity and body temperature. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 65, 492-498.
- Carlton, P. L. y Marks, R. A. (1958). Cold exposure and heat reinforced operant behavior. *Science*, 28, 1344.
- Carola, V., Frazzetto, G., Pascucci, T., Audero, E., Puglisi-Allegra, S., Cabib, S., Lesch, K. P. y Gross, C. (2008). Identifying molecular substrates in a mouse model of the serotonin transporter x environment risk factor for anxiety and depression. *Biological Psychiatry*, 63, 840-846.
- Carrera, O. Apego y Anorexia Nerviosa: Manipulación de las experiencias tempranas en ratas y desempeño en el procedimiento experimental de Anorexia Basada en la Actividad. Tesis Doctoral., Universidad de Santiago de Compostela, 2007.
- Carrera, O., Cerrato, M., Vázquez, R., Sineiro, C. y Gutiérrez, E. (en prensa). Gender Dimorphic effects of voluntary running in laboratory rats depends on maturational status. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*.
- Casper, R. C. (1998). Behavioral activation and lack of concern, core symptoms of anorexia nervosa? *International Journal Eating Disorder*, 24, 381-393.
- Casper, R. C. (2002). How useful are pharmacological treatment in eating disorders? *Psychopharmacology Bulletin*, 36, 88-104.
- Casper, R. C. (2006). The 'drive for activity' and "restlessness" in anorexia nervosa: Potential pathways. *Journal of Affective Disorders*, 92, 99-107.
- Casper, R. y Davis, J. M. (1977). On the course of anorexia nervosa. *American Journal of Psychiatry*, 134, 974-978.
- Casper, R. C., Sullivan, E. L. y Tecott, L. (2008). Relevance of animal models to human eating disorders and obesity. *Psychopharmacology*, 199, 313-329.

- Cerrato, M. (2007). Efecto del aislamiento social en el procedimiento de Anorexia basada en la actividad, DEA.
- Cerrato, M., Carrera, O., Vázquez, R., Echevarría, E. y Gutiérrez, E. (2010). *Heat makes a difference in Activity-Based Anorexia: A translational approach to treatment development in anorexia nervosa*. Manuscrito presentado para su publicación.
- Chen, Z. Y., Jing D., Bath, K. G., Leraci A., Khan, T., Siao, C. J., Herrera, D. , Toth, M., Yang, C., McEwen, B. S., Hempstead, B. L. y Lee, F. S. (2006). Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science*, 314, 140-143.
- Chen, A. S., Metzger, J. M., Trumbauer, M. E., Guan, X. M., Yu, H., Frazier, E., Marsh, D. J, Forrest, M. J., Gopal-Truter, S., Fisher, J., Camacho, R. E., Strack, A. M., Mellin, T. N., MacIntyre, D. E., Chen, H. Y. y Van der Ploeg L. H. (2000). Role of melanocortin 4 receptors in metabolic rate and food intake in mice. *Transgenic Research*, 9, 145-154.
- Cheney, C. D. y Epling, W. F. (1968). Running wheel activity and self starvation in the White rat. Manuscrito no publicado. En Pierce, W. D. y Cheney, C. D. (2004). *Behavior Analysis and Learning*. New Jersey: Mahwah, LEA.
- Chossat, C. (1843). Recherches expérimentales sur l'inanition. *Sciences Mathématiques et Psysiques*, 8, 438-640.
- Cobb, S. (1950). *Emotions and clinical Medicine*. New York, Norton, 1950.
- Collier, G. (1969). Body Weight loss as a measure of motivation in hunger and thirst. *Annals of the New York Academy of Science*, 157, 594-609.
- Collier, G. y Hirsch, E. (1971). Reinforcing properties of spontaneous activity in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 77, 155-160.
- Collier, G. y Levitsky, D. A. (1968). Operant running as a function of deprivation and effort. *Journal of Comparative and Pshysiological Psychology*, 687, 522-523.

- Cone, R. D. (1999). The central melanocortin system and energy homeostasis. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 10, 211-216.
- Cone, R. D. (2005). Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nature Neuroscience*, 8, 571-578.
- Connan, F. y Treasure, J. (1998). Stress, eating and neurobiology. En H. W. Hoek, J. L. Treasure y M. A. Katzman (Eds.), *Neurobiology in the Treatment of Eating Disorder*. Chichester, England: Wiley.
- Coscina, D. V. y Garfinkel, P. E. (1991). Animal models of eating disorders: A clinical perspective. En P. Willner (Ed.), *Behavioural models of psychopharmacology: Theoretical, industrial and clinical perspectives* (pp. 237-250). Cambridge: Cambridge University Press.
- Cowley, M. A., Smart, J. L., Rubinstein, M., Cerdán, M. G., Diano, S., Horvath, T. L., Cone, R. D. y Low, M. J. (2001). Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*, 411, 480-484.
- Crisp, A. H. (1965). Clinical and therapeutic aspect of anorexia nervosa: A study of 30 cases. *Journal of Psychosomatic Research*, 9, 67-78.
- Crisp, A. H. (1972). Primary anorexia nervosa or weight phobia in the male: Report on 13 cases. *British Medical Journal*, 334-338.
- Crisp, A. (1985). Arousal, physical activity, and energy balance in eating and body weight and shape disorders. *International Journal of Eating Disorders*, 4, 627-649.
- Crisp, A. (1985). Arousal, physical activity, and energy balance in eating and body weight and shape disorders. *International Journal of Eating Disorders*, 4, 627-649.
- Cross, E. S. (1939). The diagnosis and treatment of anorexia nervosa. En J. Nemiah, (1958). *Anorexia nervosa: Fact and Theory*. *American Journal of Digestive Diseases*, 3, 249-274.
- Crow, S. J., Mitchell, J. E., Roerig, J. D. y Steffen, K. (2009). What potential role is there for medication treatment in anorexia nervosa? *International Journal of Eating Disorders*, 42, 1-8.

- Dalle Grave, R., Calugi, S. y Marchesini, G. (2008). Is amenorrhea a clinically useful criterion for the diagnosis of anorexia nervosa? *Behaviour Research and Therapy*, 46, 1290 – 1294.
- Dally, P. J., Oppenheim, G. B. y Sargant, W. (1958). Anorexia Nervosa. *British Medical Journal*, 2, 633-634.
- Dally, P. J. y Sargant, W. (1960). A new treatment of anorexia nervosa. *British Medical Journal*, 1, 1770-1773.
- Dally, P. J. y Sargant, W. (1966). Treatment and outcome of anorexia nervosa. *British Medical Journal*, 2, 793-795.
- Dardennes, R. M., Zizzari, P., Tolle, V., Foulon, C., Kipman, A., Romo, L., Iancu-Gontard, D., Boni, C., Sinet, P.M., Thérèse Bluet, M., Estour, B., Mouren, M. C., Guelfi, J. D., Rouillon, F., Gorwood, P. y J. Epelbaum, J. (2007). Family trios analysis of common polymorphisms in the obestatin/ghrelin, BDNF and AGRP genes in patients with Anorexia nervosa: association with subtype, body-mass index, severity and age of onset. *Psychoneuroendocrinology*, 32, 106-113.
- Davis, C. T. M. (1997). Eating disorders and hyperactivity: a psychobiological perspective. *Canadian Journal of Psychiatry*, 42, 168-175.
- Davis, C. T. M., Blackmore, E., Katzman, D. K. y Fox, J. (2005). Female adolescents with anorexia nervosa and their parents: A case-control study of exercise attitudes and behaviours. *Psychological Medicine*, 35, 377-386.
- Davies, C. T. M., Fohlin, L y Thorén, C. (1979a). Temperature regulation in anorexia nervosa. *Journal of Physiology*, 268, 8P.
- Davies, C. T. M., Fohlin, L. y Thorén, C. (1979b). Temperature regulation in anorexia nervosa patients during prolonged exercise. *Acta Medica Scandinava*, 205, 257-262.
- Davis, C. T. M, Katzman, D. K., Kaptein, S., Kirsh, C., Brewer, H.; Kalmbach, Olmsted, M.P., Woodside, D. B. y Kaplan, A. S. (1997). The prevalence of high-level exercise in the eating disorders: etiological implications. *Comprehensive Psychiatry*, 38, 321-327.

- Davis, C. T. M, Katzman, D. K. y Kirsh, C. (1999). Compulsive pshysical activity in adolescents with anorexia nervosa. A psychobehabioral spiral of pathology. *Journal of Nervous and Mental Disease*, 187, 336-342.
- De Boer, M. D. y Marks, D. L., (2006). Cachexia: lessons from melanocortin antagonism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 17, 199-204.
- De Krom, M., de Rijke, C. E., Hendriks, J., van Engeland, H., van Elburg, A. A. y Adan, R. A. (2005). Mutation analysis of the agouti related protein promoter region and the melanocortin-3 receptor in anorexia nervosa patients. *Psychiatric Genetics*, 15, 237.
- De Rijke, C. E., Hillebrand, J. J., Verhagen, L. A., Roeling, T. A. y Adan, R. A. (2005). Hypothalamic neuropeptide expression following chronic food restriction in sedentary and wheel-running rats. *Journal of Molecular Endocrinology*, 35, 381-390.
- Deann, P. D., Atchley, D. P. y Eckel, L. A. (2006). Treatment with 8-OH-DPAT attenuates the weight loss associated with activity-based anorexia in female rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 83, 547-555.
- Dixon, D. P., Ackert, A. M. y Eckel, L. A. (2003). Development of, and recovery from, activity-based anorexia in female rats. *Physiology and Behavior*, 80, 273-279.
- Doerries, L. E., Stanley, E. Z. y Aravich, P. F. (1991). Activity-based anorexia: relationship to gender and activity-stress ulcers. *Physiology and Behavior*, 50, 945-949.
- Du Bois, F. (1949). Compulsion Neurosis with cachexia (Anorexia Nervosa). *American Journal of Psychiatry*, 106, 107-115.
- Dunican, K. C. y Del Dotto, D. (2007). The role of olanzapine in the treatment of anorexia nervosa. *The Annals of Pharmacotherapy*, 41, 111-115.
- Dwyer, D. M. y Boakes, R. A. (1997). Activity-based anorexia in rats as a failure to adapt to a feeding schedule. *Behavioral Neuroscience*, 111, 195-205.
- Eayrs, J. T. (1954). Spontaneous activity in the rat. *British Journal of Animal Behavior*, 2, 25-30

- Eckert, E. D., Halmi, K. A., Marchi, P., Grove, W. y Crosby, R. (1995). Ten-year follow-up of anorexia nervosa: clinical course and outcome. *Psychological Medicine*, 25, 143-156.
- Edholm, O. G., Fletcher, J. G., Widdowson, E. M. y McCance, R. A. (1955). The energy expenditure and food intake of individual men. *British Journal of Nutrition*, 9, 286-300.
- Eikelboom, R. y Mills, R. (1988). A microanalysis of wheel running in male and female rats. *Physiology and Behavior*, 43, 625-630.
- Eissler, K. R. (1943). Some psychiatric aspects of anorexia nervosa demonstrated by a case report. *Psychoanalytic Review*, 30, 121-145.
- Eisler, I., Dare, C., Hodes, M., Russell, G., Dodge, E. y Le Grange, D. (2000). Family therapy for adolescent anorexia nervosa: the results of a controlled comparison of two family interventions. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 41, 727-736.
- Eisler, I., Dare, C., Russell, G. F., Szmulker, G., le Grange, D. y Dodge, E. (1997). Family and individual therapy in anorexia nervosa. A 5-year follow-up. *Archives General of Psychiatry*, 54, 1025-1030.
- Eisler, I. y Le Grange, D. (1990). Excessive exercise in anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 9, 377-386.
- Eisler, I., Simic, M., Russell, G. F. y Dare, C. (2007). A randomised controlled treatment trial of two forms of family therapy in adolescent anorexia nervosa: a five-year follow-up. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 48, 552-560.
- Emamian, E. S., Hall, D., Birnbaum, M. J., Karayiorgou, M. y Gogos, J. A. (2004). Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3 β signalling. *Nature Genetics*, 36, 131-137.
- Epling, W. F. y Pierce, W. D. (1984). Activity-based anorexia in rats as a function of opportunity to run on an activity wheel. *Nutrition and Behaviour*, 2, 37-49.
- Epling, W. F. y Pierce, W. D. (1985). Activity based anorexia in rats as a function of opportunity to run in an activity wheel. *Nutrition Behavior*, 2, 37-49.

- Epling, W. F. y Pierce, W. D. (1988). Activity-based anorexia : A biobehavioral perspective. *International Journal of Eating Disorder*, 7, 475 -485.
- Epling, W. F. y Pierce, W. D. (1991). *Solving the anorexia puzzle. A scientific approach*. Toronto: Hogrefe and Huber publishers.
- Epling, W. F. y Pierce, W. D. (1996). *Activity Anorexia. Theory, Research, and Treatment*. New Jersey: Mahwah, LEA.
- Epling, W. F., Pierce, W. D. y Stefan, L. A. (1981). Schedule-induced self-starvation. In C. M. Bradshaw, E. Szabadi, and C. F. Lowe (Eds.), *Quantification of steady-state operant behaviour* (pp. 393-396). Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical Press.
- Epling, W. F., Pierce, W. D. y Stefan, L. (1983). A theory of activity-based anorexia. *International Journal of Eating Disorder*, 3, 27-46.
- Escamilla, R. F. (1944). Anorexia nervosa or Simmonds' disease? Notes on clinical management with some points of differentiation between the two conditions. *Journal of Nervous and Mental Disease*, 99, 583-587.
- Escamilla, R. F y Lisser, H. (1942). Simmonds' disease: A clinical study with review of the literature; differentiation from anorexia nervosa by statistical analysis of 595 cases, 101 of which were proved pathologically. *Journal of Clinical Endocrinology*, 2, 65.
- Evans, H. M y Bishop K. S. (1922). Relations between fertility and nutrition; ovulation rhythm in the rat on standard nutritional regime. *Journal of Metabolic Research*, 1, 319-333.
- Evans, J. C. G. (1939). Anorexia nervosa. *Lancet*, 1, 268-269.
- Exner, C., Hebebrand, J., Remschmidt, H., Wewetzer, C., Ziegler, A., Herpertz, S., Schweiger, U., Blum, W. F., Preibisch, G., Heldmaier, G. y Klingenspor M. (2000). Leptin suppresses semi-starvation induced hyperactivity in rats: implications for anorexia nervosa. *Molecular Psychiatry*, 5, 476-481.
- Fairburn, C. G. (2005). Evidence-based treatment of anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 37, 26-30.
- Fairburn, C. G., Jones, R., Peveler, R. C., Hope, R. A. y O'Connor, M. (1993). Psychotherapy and bulimia nervosa: Longer-term effects on

- interpersonal psychotherapy, behaviour therapy, and cognitive behavior therapy. *Archives of General Psychiatry*, 50, 419-428.
- Fairburn, C. G., Shafran, R. y Cooper, Z. (1999). A cognitive behavioural theory of anorexia nervosa. *Behaviour Research and Therapy*, 37, 1-13.
- Farquharson, R. F. (1941). Anorexia nervosa. *Illinois Medical Journal*, 80, 193-197.
- Farquharson, R. F., y Hyland, H. H. (1938). Anorexia nervosa: metabolic disorder of psychologic origin. *Journal of the American Medical Association*, 111, 1085-1092.
- Favaro, A. y Santonastaso, P. (2009). Seasonality and the prediction of weight at resumption of menses in anorexia nervosa. *Fertility and Sterility*, 91, 1395-1397.
- Feighner, J. P., Robins, E., Guze, S. B., Woodruff, R. A., Winokur, G., y Muñoz, R. (1972). Diagnostic criteria for use in psychiatric research. *Archives of General Psychiatry*, 26, 57-63.
- Fessler, D. M. T. (2002). Pseudoparadoxical impulsivity in restrictive anorexia nervosa: a consequence of the logic of scarcity. *International Journal of Eating Disorders*, 31, 376-388.
- Fetissov, S. O., Hamze Sinno, M., Coquerel, Q., Do Rego, J. C., Coëffier, M., Gilbert, D., Hökfelt, T. y Déchelotte, P. (2008). Emerging role of autoantibodies against appetite-regulating neuropeptides in eating disorders. *Nutrition*, 24, 854-859.
- Finger, F. W. (1951). The effects of food deprivation and subsequent satiation upon general activity in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 44, 557-564.
- Flint J. y Shifman S. (2008). Animal models of psychiatric disease. *Current Opinion in Genetics & Development*, 18, 235-240.
- Franklin, J. C., Schiell, B. C., Brozek, J. y Keys, A. (1948). Observations on Human behavior in experimental semistarvation and rehabilitation. *Journal of Clinical Psychology*, 4, 28-45.
- Garfinkel, P. E. y Garner, D. M. (1982). *Anorexia nervosa: A multidimensional approach*. New York: Brunner/Mazel.

- Garfinkel, P. E., Garner, D. M. y Moldofsky, H. (1977). The Role of Behavior Modification in the Treatment of Anorexia Nervosa. *Journal of Pediatric Psychology*, 2, 113-121.
- Garner, D. M. (1993). Pathogenesis of Anorexia Nervosa, *Lancet*, 341, 1631-1635.
- Garner, D. M. y Garfinkel, P. E. (1979). The Eating Attitudes Test: An index of the symptoms of anorexia nervosa. *Psychological Medicine*, 9, 273-279.
- Garner, D. M., Olmsted, M. P., Bohr, Y. y Garfinkel, P. E. (1982). The Eating Attitudes Test: Psychometric features and clinical correlates. *Psychological Medicine*, 12, 871-878.
- Gelegen, C., Collier, D. A., Campbell, I. C., Oppelaar, H. y Kas, M. J. (2006). Behavioral, physiological, and molecular differences in response to dietary restriction in three inbred mouse strains. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 291, E574-E581.
- Gendall, K. A., Joyce, P. R., Carter, F. A., McIntosh, V. V., Jordan, J. y Bulik, C. M. (2006). The psychobiology and diagnostic significance of amenorrhea in patients with anorexia nervosa. *Fertility and Sterility*, 85, 1531-1535.
- Geyer, M. A. y Markou, A. (1995). Animal models of psychiatric disorder. En: Bloom, F. E., and Kupfer, D. J. (Eds.), *Psychopharmacology. The Fourth Generation of Progress*. Raven Press, Ltd., New York, pp.787-798.
- Glavin, G. B. y Paré, W. P. (1985). Early weaning predisposes rats to exacerbated Activity-Stress ulcer formation. *Physiology and Behavior*, 34, 907-909.
- Gordon, C. J. (1990). Thermal biology of laboratory rat. *Physiology y Behavior*, 47, 963-991.
- Gordon, R. A. (1998). Concepts of eating disorder: A historical reflection. En H. W. Hoek, J. L. Treasure y M. A. Katzman (Eds.), *Neurobiology in the treatment of Eating Disorders* (pp. 5-26). Chichester, England: Wiley.
- Gowers, S. G, Clark, A., Roberts, C., Griffiths, A., Edwards, V., Bryan, C., Smethurst, N., Byford, S. y Barrett, B. (2007). Clinical effectiveness of

- treatments for anorexia nervosa in adolescents: randomised controlled trial. *British Journal of Psychiatry*, 191, 427-435.
- Gowers, S. G., Weetman, J., Shore, A. Hossain, F. y Elvins, R. (2000). Impact of hospitalisation on the outcome of adolescent anorexia nervosa. *British Journal of Psychiatry*, 176, 138-141.
- Guarda, A. S. (2008). Treatment of anorexia nervosa: insights and obstacles. *Physiology y behavior*, 94, 113-20.
- Gull, W. (1868). The address in medicine delivered before the Annual Meeting of the British Medical Association at Oxford. *Lancet*, 2, 171-176.
- Gull, W. (1873). Anorexia hystérica (apepsia hystérica). *British Medical Journal*, 2, 527-528.
- Gull, W. (1874). Anorexia nervosa (apepsia hysterica, anorexia hysterica). *Transactions of the Clinical Society of London*, 7, 22-28.
- Gutiérrez, E., Baysari, M. T., Carrera, O., Whitford, T. J. y Boakes, R. A. (2006). High ambient temperature reduces rate of bodyweight loss produced by wheel running. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 59, 1196-1211.
- Gutiérrez, E., Cerrato, M., Carrera, O. y Vázquez, R. (2008). Heat reversal of activity-based anorexia: implications for the treatment of anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 41, 594-601.
- Gutiérrez, E., Churrua, I., Zarate, J., Carrera, O., Portillo, M. P., Cerrato, M., Vázquez, R. y Echevarría, E. (2009). High ambient temperature reverses hypothalamic MC4 receptor overexpression in an animal model of anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, 34, 420-429.
- Gutiérrez, E. y Vázquez, R. (2001). Heat in the treatment of anorexia nervosa patients. *Eating and Weight Disorders*, 6, 49-52.
- Gutiérrez, E., Vázquez, R. y Boakes, R. A. (2002). Activity-based anorexia: Ambient temperature has been a neglected factor. *Psychonomic Bulletin Review*, 9 (2), 239-49.
- Gutiérrez, M. T. y Pellón, R. (2002). Anorexia por actividad: una revisión teórica y experimental. *Journal of Psychology and Psychological Therapy*, 2, 131-145.

- Habermas, T. (2005). On the Uses of History in Psychiatry: Diagnostic implications for anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 38, 167-182.
- Hall, J. F. y Hanford, P. V. (1954). Activity as a function of a restricted feeding schedule. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 47, 362-363.
- Hall, J. F., Smith, K., Schnitzer, S. B. y Hanford, P. V. (1953). Elevation of activity level in the rat following transition from ad libitum to restricted feeding. *Journal of Comparative & Physiological Psychology*, 46, 429-433.
- Hall, R. C. W. y Beresford, T. P. (1989). Medical complications of anorexia and bulimia. *Psychiatric Medicine*, 7, 165-192.
- Halmi, K. A. (1974). Anorexia Nervosa. Demographic and clinical features. *Psychosomatic Medicine*, 36, 18-26.
- Halmi, K. A. (2009). Perplexities and provocations of eating disorders. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 50, 163-169.
- Halmi, K. A., Powers, P. y Cunningham, S. (1975). Treatment of anorexia nervosa with behavior modification. *Archives of General Psychiatry*, 32, 93-95.
- Hamilton, C. L. (1959). Effect of food deprivation on thermal behaviour of the rat. *Proceeding of the Society of Experimental Biology & Medicine*, 100, 354-356.
- Hamilton, C. L. (1969). Problems of refeeding after starvation in the rat. *Annals N.Y. Academy of Sciences*, 157, 1004-1017.
- Hamilton, C. L. y Brobeck, J. R. (1964). Food intake and temperature regulation in rats with rostral hypothalamic lesions. *American Journal of Physiology*, 207, 291-297.
- Hamilton, C. W. y Royer, M. G. (2002). Task Force on the Contributions of Medical Writers to Scientific Publications. AMWA position statement on the contributions of medical writers to scientific publications. *AMWA Journal* 2003; 18, 13-16.
- Hara, C. (1989). Physiological characteristics of rats exposed to activity-stress. *Japanese Journal of Psychosomatic Medicine*, 29, 133-140.

- Hara, C. y Ogawa, N. (1981). The activity-stress ulcer and antibody production in rats. *Physiology and Behavior*, 27, 1609-1613.
- Hara, C. y Ogawa, N. (1983). Influence of maturation on ulcer-development and immunodeficiency induced by activity-stress in rats. *Physiology and Behavior*, 30, 757-761.
- Hara, C. y Ogawa, N. (1984). Effects of psychotropic drug son the development activity- stress ulcer in rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 35, 474-477.
- Hara, C., Watanabe, K. y Ogawa, N. (1981). Influence of activity-stress on thymus, spleen and adrenal weights in rats: possibility for an immunodeficiency model. *Physiology and Behavior*, 27, 43-248.
- Hebebrand, J., Exner, C., Hebebrand, K., Holtkamp, C., Casper R. C., Remschmidt, H., Herpertz-Dahlmann, B. y Klingenspor, M. (2003). Hyperactivity in patients with anorexia nervosa and in semistarved rats: evidence foe a pivotal role of hypoleptinemia. *Physiology & Behavior*, 6957, 1-13.
- Hebebrand, J., Muller, T. D., Holtkamp, K. y Herpertz-Dahlmann, B. (2007). The role of leptin in anorexia nervosa: clinical implications. *Molecular Psychiatry*, 12, 23-35.
- Herpertz-Dahlmann, B. y Salbach-Andrae, H. (2009). Overview of Treatment Modalities in Adolescent Anorexia Nervosa. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*, 18, 131-145.
- Hillebrand, J.J. *Hypothalamic Signaling in an animal modelo of anorexia nervosa*. Tesis Doctoral: Utrecht University, 2005.
- Hillebrand, J. J., Van Elburg, A. A., Kas, M. J., van Engeland, H. y Adan, R. A. (2005a). Olanzapine Reduces Physical Activity in Rats Exposed to Activity-Based Anorexia: Possible Implications for Treatment of Anorexia Nervosa? *Biological Psychiatry*, 58, 651-657.
- Hillebrand, J. J., Kas, M. J. y, Adan, R. A. (2005b). Alpha-MSH enhances activity-based anorexia. *Peptides*, 26, 1690-1696.
- Hillebrand, J. J., Koeners, M. P., De Rijke, C. E., Kas, M. J. y Adan, R. A. (2005c). Leptin treatment in activity-based anorexia. *Biological Psychiatry*, 58, 165-171.

- Hillebrand, J. J., de Rijke, C. E., Brakkee, J. H., Kas, M. J. y Adan, R. A. (2005d). Voluntary access to a warm plate reduces hyperactivity in activity-based anorexia. *Physiology and Behavior*, 85, 151-157.
- Hillebrand, J. J., Heinsbroek, A. C. M., Kas, M. J., y Adan, R. A. (2006a). The appetite suppressant d-fenfluramine reduces water intake, but not food intake, in activity-based anorexia. *Journal of Molecular Endocrinology*, 36, 153-162.
- Hillebrand, J. J., Kas, M. J., Scheurink, A. J., van Dijk, G. y Adan, R. A. (2006b). AgRP (83-132) and SHU9119 differently affect activity-based anorexia. *European Neuropsychopharmacology*, 16, 403-412.
- Hillebrand, J. J., Kas, M. J., van Elburg, A. A., Hoek, H. W. y Adan, R. A. (2008) Leptin's effect on hyperactivity: Potential downstream effector mechanisms. *Physiology and Behavior*, 94, 689-695.
- Hodes, M., Eisler, I. y Dare, C. (1991). Family therapy for anorexia nervosa in adolescence: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 84, 359-362.
- Hoek, A. U. y Van Hoeken, D. (2003). Review of prevalence and incidence of eating disorders. *International Journal Eating Disorder*, 34, 383-396.
- Holtkamp, C., Hebebrand, J. y Herpertz-Dahlmann, B. M. (2004). The contribution of anxiety and food restriction on physical activity levels in acute anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 36, 163-171.
- Holtkamp, K., Hebebrand, J., Mika, C., Heer, M., Heussen, N. y Herpertz-Dahlmann, B. (2004). High serum leptin levels subsequent to weight gain predict renewed weight loss in patients with anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, 29, 791-797.
- Hommel, J. D., Trinko, R., Sears, R. M, Georgescu, D., Liu, Z. W., Gao, X. B. , Thurmon, J.J., Marinelli, M. y DiLeone, R. J. (2006). Leptin receptor signaling in midbrain dopamine neurons regulates feeding. *Neuron*, 51, 801-810.
- Horton, T. y Braun, B. (2004). Sex-based differences in substrate metabolism. *Advances in Molecular and Cell Biology*, 34, 209-227.

- Hoyenga, K. B. y Hoyenga, K. T. (1982). Gender and energy balance: sex differences in adaptations for feast and famine. *Physiology and Behavior*, 28, 545-563.
- Hurst, A. (1939). Discussion on anorexia nervosa. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 32, 742.
- Huszar, D., Lynch, C. A., Fairchild-Huntress, V., Dunmore, J. H., Fang, Q., Berkemeier, L. R., Kesterson, R. A., Boston, B.A., Cone, R. D., Smith, F. J., Campfield, L. A., Burn, P. y Lee, F. (1997). Targeted disruption of the melanocortin 4 receptor results in obesity in mice. *Cell*, 88, 131-141.
- Ibuka, N., Inouye, S. T. y Kawamura, H. (1977). Analysis of sleep-wakefulness rhythms in male rats after suprachiasmatic nucleus lesions and ocular enucleation. *Brain Research*, 122, 33-47.
- Ioakimidis, I., Zandian, M., Bergh, C. y Södersten, P. (2009). A method for the control of eating rate: A potential intervention in eating disorders. *Behavior Research Methods*, 41, 755-760.
- Jacobs, A. y Wager, E. (2005). European Medical Writers Association (EMWA) guidelines on the role of medical writers in developing peer-reviewed publications. *Current Medical Research and Opinion*, 21, 317-322.
- Janet, P. (1903). *Les obsessions et la psychasthénie*. Paris: Felix Alcan.
- Janet, P. (1929). The major symptoms of hysteria. En M. R. Kaufman y Heiman, M. (Eds.), *Evolution of psychosomatic concepts*, (pp. 156-160). New York: International University Press, 1964.
- Johansen, J. y Schalling M. (2002). Animal models of eating disorders. En H. D'Haenen y J. A. W. P. den Boer (Eds.), *Biological Psychiatry*, John Wiley y Sons, Ltd., 2002, pp.1117-1125.
- Kanarek, R. B. y Collier, G. (1983). Self-Starvation: A problem of overriding the satiety signal? *Physiology and Behavior*, 30, 307-311.
- Kaplan, A. S. (2002). Psychological treatments for anorexia nervosa: A review of published studies and promising new directions. *Canadian Journal of Psychiatry*, 47, 235-241.
- Kas, M. J, van Dijk G., Scheurink A. J. y Adan, R. A. (2003). Agouti-related protein prevents selfstarvation. *Molecular Psychiatry*, 8, 235-240.

- Kaufman, M. R. y Heiman, M. (1964). *Evolution of psychosomatic concepts. Anorexia nervosa: A paradigm*. London: The Hogarth Press
- Kavanau, J. L. (1971). Locomotion and activity phasing of some medium-sized mammals. *Journal of Mammalogy*, 52, 386-403.
- Kay, D. W. K. (1953). Anorexia nervosa: A study of prognosis. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 46, 669-674.
- Kay, D. W. K. y Leigh, D. (1954). The natural history, treatment and prognosis of anorexia nervosa, based on a study of 38 patients. *Journal of Mental Science*, 100, 411-431.
- Kaye, W. H., Gwirtsman, H. E., Obarzanek, E., George, T., Jimerson, D. C. y Ebert, M. H. (1986) Caloric intake necessary for weight maintenance in anorexia nervosa: nonbulimics require greater caloric intake than bulimics. *American Journal of Clinical Nutrition*, 44, 435-443.
- Keel, P. K. y Haedt, A. (2008). Evidence-based psychosocial treatments for eating problems and eating disorders. *Journal of Clinical and Child Adolescence Psychology*, 37, 39-46.
- Keel, P. K. y Klump, K. L. (2003). Are eating disorders culture-bound syndromes? Implications for conceptualizing their etiology. *Psychological Bulletin*, 129, 747-769.
- Keys, A., Brozek, J., Henschel, A., Mickelsen, O. y Taylor, H. L. (1950). *The biology of human starvation* (2 vols.). Minneapolis: University of Minnesota Press.
- Kidd, B. y Wood, J. F. (1966): Some observations on anorexia nervosa *Postgraduate Medical Journal*, 42, 443-448.
- King, A. (1963). Primary and Secondary Anorexia Nervosa Syndrome. *British Journal of Psychiatry*, 109, 470-479.
- Klein, D. A. y Walsh, B. T. (2005). Translational Approaches to Understanding Anorexia Nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 37, S10-S14.
- Kline, C. L. (1979). Anorexia nervosa: death from complications of ruptured gastric ulcer. *Can Journal of Psychiatry*, 24, 153-156.

- Kohl, M., Foulon, C. y Guelfi, J. D. (2004). Aspects comportementaux et biologiques de l'hyperactivité dans l'anorexie mentale. *Encéphale*, 30, 492-499.
- Koob, G. F. (1992). Dopamine, addiction and reward. *Seminars in Neuroscience*, 4, 139-148.
- Kron, L., Katz, J. L., Gorzynski, G. y Weiner, H. (1978). Hyperactivity in anorexia nervosa: A fundamental clinical feature. *Comprehensive Psychiatry*, 19, 433-440.
- Lambert, K. G. (1993). The activity-stress paradigm: Possible mechanisms and applications. *Journal of General Psychology*, 120, 21-32.
- Lambert, K. G. y Hanrahan, L. (Abril 1990). The Effect of ambient temperature on the activity-stress ulcer paradigm. Sesión de cartel presentada en la reunion de la Southern Society for Philosophy and Psychology, Louisville, KY.
- Lambert, K. G. y Kingsley, C. H. (1993). Sex differences and gonadal hormones influences susceptibility to the activity-stress paradigm. *Physiology and behavior*, 53, 1085-1090.
- Lambert, K. G. y Peacock, L. J. (1989). Feeding regime affects activity-stress ulcer production. *Physiology and Behavior*, 48, 743-746.
- Lambert, K. G. y Porter, J. H. (1992). Pimozide mitigates excessive running in the activity-stress paradigm. *Physiology and behavior*, 52, 299-304.
- Lasègue, C. (1873). De l'anorexie hystérique. *Archives Générales de Médecine*, 21, 385-403.
- Lask, B. y Frampton, I. (2009). Anorexia nervosa irony, misnomer and paradox. *European Eating Disorders Review*, 17, 165-168.
- Lattanzio, S. B. y Eikelboom, R. (2003). Wheel access duration in rats: I. Effects on feeding and running. *Behavioral Neuroscience*, 117, 496-504.
- Le Grange, D., Crosby, R. D. y Lock, J. (2008). Predictors and moderators of outcome in family-based treatment for adolescent bulimia nervosa. *Journal of American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 47, 464-470.
- Le Grange D. y Eisler I. (1993). The link between anorexia nervosa and excessive exercise: A review. *Eating Disorders Review*, 1, 100-119.

- Lee, S. (2001). Fat phobia in anorexia nervosa: Whose obsession is it?. En M. Nasser, M. A. Katzman y R. A. Gordon (Eds.), *Eating Disorders and Cultures in Transition*. (pp. 40-54). New York: Taylor & Francis.
- Leon Felipe (1930). *Versos y oraciones del caminante II*. Madrid: Visor 1993.
- Leon, L. R. (2005). The use of gene knockout mice in thermoregulation studies. *Journal of Thermal Biology*, 30, 273-288.
- Lett, B. T., Grant, V. L., Smith, J. F. y Koh, M. T. (2001). Preadaptation to the feeding schedule does not eliminate activity -based anorexia in rats. *Quartely Journal of Experimental Psychology*, 54B, 193 -199.
- Levitsky, D. A. y Collier, G. (1968). Schedule induced wheel running. *Physiology and Behavior*, 3, 571-573.
- Livak, K. J. y Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} (-Delta Delta C (T)). *Methods*, 25, 402-408.
- Lock, J. (2002). Treating adolescents with eating disorders in the family context. Empirical and theoretical considerations. *Child and adolescent psychiatric clinics of North America*, 11, 331-342.
- Lock, J., Agras, W. S., Bryson, S. y Kraemer, H. C. (2005). A comparison of short- and long-term family therapy for adolescent anorexia nervosa. *Journal of the American Academy of Child y Adolescent Psychiatry*, 44, 632-639.
- Lock, J., Couturier, J. y Agras, W. S. (2006). Comparison of long-term outcomes in adolescents with anorexia nervosa treated with family therapy. *Journal of the American Academy of Child y Adolescent Psychiatry*, 45, 666-672.
- Lock, J., Couturier, J. y Agras, W. S. (2008). Costs of remission and recovery using family therapy for adolescent anorexia nervosa: a descriptive report. *International Journal of Eating Disorders*, 16, 322-330.
- Lock, J. y Le Grange, D. (2001). Can family-based treatment of anorexia nervosa be manualized? *Journal of Psychotherapy Practice and Research Fall*, 10, 253-261.

- Lock, J. y Le Grange, D. (2005). Family-based treatment of eating disorders *International Journal of Eating Disorder*, 37, (Supl.1), 64-67.
- Lock, J., Le Grange, D., Forsberg, S. y Hewell, K. (2006). Is family therapy useful for treating children with anorexia nervosa? Results of a case series. *Journal of the American Academy of Child y Adolescent Psychiatry*, 45, 1323-1328.
- Loeb, K. L., Walsh, B. T., Lock, J., Le Grange, D., Jones, J., Marcus, S., Weaver, J. y Dobrow, I. (2007). Open trial of family-based treatment for full and partial anorexia nervosa in adolescence: evidence of successful dissemination. *Journal of the American Academy of Child y Adolescent Psychiatry*, 46, 792-800.
- Loeb, L. (1964). The clinical course of anorexia nervosa. *Psychosomatics*, 5, 345-347.
- Lorand, S. (1943). Anorexia nervosa: Report of a case. *Psychosomatic Medicine*, 5, 282-292.
- Löwe, B., Zipfel, S., Buchholz, C., Dupont, Y., Reas, D. L. y Herzog, W. (2001). Long-term outcome of anorexia nervosa in a prospective 21-year follow-up study. *Psychological Medicine*, 31, 881-890.
- Luk, P. y Wakeling, A. (1980). Altered thresholds for thermoregulatory sweating and vasodilatation in anorexia nervosa. *British Medical Journal*, 281, 906-908.
- Luk, P. y Wakeling, A. (1981). Increased cutaneous vasoreactivity to cold in anorexia nervosa. *Clinical Science*, 61, 559-567.
- Luk, P. y Wakeling, A. (1982). Set-point displacement for behavioural thermoregulation in anorexia nervosa. *Clinical Science*, 62, 677-682.
- Lumia, A. R., Teicher, M. H., Salchli, F., Ayers, E. y Possidente, B. (1992). Olfactory bulbectomy as a model for agitated hyposerotonergic depression. *Brain Research*, 587, 181-185.
- Macgregor, T. N. (1936). Tr. Edinburgh Obst. Soc. En Sheldon, J. H.(1939). Discussion on Anorexia Nervosa. *Proceeding of the Royal Society of Medicine*, 32, 738-741.
- Makenzie, S. A. (1888). A case of anorexia nervosa vel hysterica. *Lancet*, 1, 613-614.

- Marce, L. V. (1860). Note sur une forme de déliere hypochondriaque consécutive aux dyspepsies et caracterisée principalement par le refus d'aliments. *Annales Médico Psychologiques*, 6, 15-28.
- Markison, S., Foster, A. C., Chen, C., Brookhart, G. B., Hesse, A., Hoare, S. R. Fleck, J., Brown, B. T. y Marks, D. L. (2005). The Regulation of Feeding and Metabolic Rate and the Prevention of Murine Cancer Cachexia with a Small-Molecule Melanocortin-4 Receptor Antagonist. *Endocrinology*, 146, 2766–2773.
- Marsh, D. J., Hollopeter, G., Huszar, D., Laufer, R., Yagaloff, K. A., Fisher, S. L., Burn, P. y Palmiter, R. D. (1999). Response of melanocortin-4 receptor-deficient mice to anorectic and orexigenic peptides. *Nature Genetics*, 21, 119-122.
- Marx, J. (2003). Cellular Warriors at the Battle of the Bulge. *Science*, 299, 846-849.
- Masserman, J. H. (1941). Psychodynamisms in anorexia nervosa and neurotic vomiting. *The Psychoanalytic Quartely*, 10, 211-242.
- Matthysse, S. (1986). Animal models in psychiatric research, *Progress in Brain Research*; 65, 259-270.
- Mather, J.G. (1981). Wheel-running activity: A new interpretation. *Mammal Review*, 11, 41-51.
- Mayer, J. (1963). Anorexia nervosa. *Postgraduate Medicine*, 34, 529-534.
- McCullagh, E. P. y Tupper, W. R (1940). Anorexia nervosa. *Annals of Internal Medicine*, 14, 817-838.
- McIntosh, V. V., Jordan, J., Carter, F. A., Luty, S. E., McKenzie, J. M., Bulik, C., Frampton, C. M. y Joyce, P. R. (2005). Three psychotherapies for anorexia nervosa: a randomized, controlled trial. *American Journal of Psychiatry*, 162, 741-747.
- McKinney, W. T. (1988). *Models of Mental Disorders: A New Comparative Psychiatry*. Plenum, New York.
- Meyer, C., Taranis, L. y Touyz, S. (2008). Excessive exercise in the eating disorders. *European Eating Disorders Review*, 16, 81-83.
- Meyer, B. y Weinroth, L. (1957). Observations on psychological aspects of anorexia nervosa. *Psychosomatic Medicine*, XIX, 389-398.

- Minuchin, S., Rosman, B. L., Baker, L. y Liebman, R. (1978). *Psychosomatic families: anorexia nervosa in context*. Harvard University Press: Cambridge, Mass.
- Mistlberger, R. E. (1994). Circadian food anticipatory activity: Formal models and physiological mechanisms. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 18, 171-195.
- Mitchell, A. M. y Bulik, C. M. (2006) Eating disorders and women's health: an update. *Journal of Midwifery and Women's Health*, 51, 193-201.
- Mitchell, J. E., Cook-Myers, T. y Wonderlich, S. A. (2005). Diagnostic criteria for anorexia nervosa: Looking ahead to DSM-V. *International Journal of Eating Disorders*, 37, S95-S97.
- Minuchin, S., Baker, L., Rosman, B., Liebman, R., Millman, L., Todd, T. (1975). A conceptual model of psychosomatic illness in children: Family organization and family therapy. *Archives of General Psychiatry*, 32, 1031-1038.
- Mondon, C. E., Dolkas, C. B., Sims, C. y Reaven, G. M. (1985). Spontaneous running activity in male rats: Effect of age. *Journal of Applied Physiology*, 58, 1553-1557.
- Morlock, C. G. (1939). Anorexia nervosa. *Proc.Staff. Meet. Mayo Clinic*, 14, 24.
- Morrow, N., Schall, M., Grijalva, C., Geiselman, P., Garrick, T., Nucción, S. y Novin, D. (1997). Body temperature and wheel running predict survival times in rats exposed to activity-stress. *Physiology and Behavior*, 62 (4), 815-825.
- Morton, R. (1694). *Phthsiologica: or a treatise of Consumption*. London: Smith y Walford.
- Morton, G. J., Cummings, D. E., Baskin, D. J., Barsh, G. S. y Schwartz, M. W. (2006). Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*, 443, 289-295.
- Moukaddem, M., Boulrier, A., Apfelbaum, M. y Rigaud, D. (1997). Increase in diet-induced thermogenesis at the start of refeeding in severely malnourished anorexia nervosa patients. *American Journal of Clinical Nutrition*, 66, 133-140.

- Moulton, R. (1942). A psychosomatic study of anorexia nervosa including the use of vagina smears. *Psychosomatic Medicine*, 4, 62-73.
- Mountjoy, K. G., Mortrud, M. T., Low, M. J., Simerly, R. B. y Cone, R. D. (1994). Localization of the melanocortin-4 receptor (MC4-R) in neuroendocrine and autonomic control circuits in the brain. *Molecular Endocrinology*, 8, 1298-1308.
- Mrosovsky, N. (1984). Animal models: Anorexia yes, nervosa no. En K. M. Pirke & D. Ploog (Eds.), *The psychobiology of anorexia nervosa* (pp. 22-34). New York: Springer-Verlag.
- Mustafá, A., Ward, A. y Treasure, J. M. P. (1997). T lymphocyte subpopulations in anorexia nervosa and refeeding. *Clin Immunol Immunopathol*, 82, 282-289.
- Nasser, M. A. Katzman, y R. A. Gordon (Eds.), *Eating Disorders and Cultures in Transition*. (pp. 40-54) New York: Taylor & Francis.
- Neary, N. M., Goldstone, A. P. y Bloom, S. R. (2004). Appetite regulation: from the gut to the hypothalamus. *Clinical Endocrinology*, 60, 153-160.
- Nemiah, J. (1958). Anorexia nervosa: Fact and Theory. *American Journal of Digestive Diseases*, 3, 249-274.
- Nergardh, R., Ammar, A., Brodin, U., Bergström, J., Scheurink, A. y Södersten, P. (2007). Neuropeptide Y facilitates activity-based-anorexia. *Psychoneuroendocrinology*, 32, 493-502.
- Nijenhuis, W. A., Oosterom, J. y Adan, R. A. (2001). AgRP (83-132) acts as an inverse agonist on the human-melanocortin-4 receptor. *Molecular Endocrinology*, 15, 164-171.
- Offord, A., Turner, H. y Cooper, M. J. (2006). Adolescent inpatient treatment for anorexia nervosa: A qualitative study exploring young adults' retrospective views of treatment and discharge. *European Eating Disorders Review*, 14, 377-387.
- Oliverio, A., Cabib, S. y Puglisi-Allegra, S. (1992). Non human behavioral models in the genetics of disturbed behavior. *Journal of Psychiatric Research*, 26, 376-382.

- Palmer, H. D. y Jones, M. S. (1939). Anorexia nervosa as a manifestation of compulsión neurosis: A study of psychogenic factors. *Archives of Neurology and Psychiatry*, 41, 856-858.
- Pardee, I. (1941). Cachexia (anorexia) nervosa. *Medical Clinics of North America*, 25, 755-773.
- Paré, W. P. (1975). The influence of food consumption and running activity on the activity-stress ulcer in the rat. *Digestive Diseases*, 20, 262-273.
- Paré, W. P. (1977). Body temperature and the activity-stress ulcer in the rat. *Physiology & Behavior*, 18, 219-223.
- Paré, W. P. (1980). Psychological studies of stress ulcer in the rat. *Brain Research Bulletin*, Vol. 5 (Suppl. 1), 73-79.
- Paré, W. P. (1986). Prior stress and susceptibility to stress ulcer. *Physiology & Behavior*, 36, 1155-1159.
- Paré, W. P. (1989a). Age differences in the body temperature response to restraint-cold stress. *Physiology & Behavior*, 45, 151-154.
- Pare, W. P. (1989b). Behavioral despair? test predicts stress ulcer in WKY rats. *Physiology and Behavior*, 46, 483-487.
- Pare, W. P. y Houser, V. P. (1973). Activity and food-restriction effects on gastric glandular lesions in the rat: The activity-stress ulcer. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 2, 213-214.
- Pare, W. P., Vincent, G. P., Isom, K. E. y Reeves, J. M. (1978). Sex differences and incidence of activity-stress ulcer in the rat. *Psychological Reports*, 4, 591-594.
- Patterson, W. (1939). Discussion on anorexia nervosa. *Proceeding of the Royal Society of Medicine*, 32, 745-746.
- Paul, D. R., Novotny, J. A. y Rumpler, W. V. (2004). Effects of the interaction of sex and food intake on the relation between energy expenditure and body composition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 385-389.
- Paxinos, G. y Watson, C. (1986). The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Second Edition. Academic Press, New York.

- Pérez-Padilla A., Magalhães P. y Pellón R. (2010). The effects of food presentation at regular or irregular times on the development of activity-based anorexia in rats. *Behavioural Processes*, 84, 541-545.
- Pearce, J. M. (2006). Sir William Withey Gull (1816-1890). *European Neurology*, 55, 53-56.
- Pieper, D. R. y Lobocki, C. A. (1991). Olfactory bulbectomy lengthens circadian period of locomotor activity in golden hamsters. *American Journal Physiology*, 261, R973-R978.
- Pierce, W. D. y Epling, W. F. (1991). Activity anorexia: An animal model and theory of human self-starvation. En A. Boulton, G. Baker y M. Martin-Iverson. (Eds.), *Neuromethods, Vol 19, Animal Models in Psychiatry, II*. Clifton, NJ: The Humana Press.
- Pierce, W. D. y Epling, W. F. (1994). Activity Anorexia. An interplay between basic and applied behavior analysis. *The Behavior Analyst*, 17, 7-23.
- Pierce, W. D., Epling, W. F y Boer, D. P. (1986) Deprivation and satiation :The interrelations between food and wheel running. *Journal of Experimental Analysis of Behaviour*, 46, 199-210.
- Pike, K. M. (1998). Long-term course of anorexia nervosa: response, relapse, remission, and recovery. *Clinical Psychology Review*, 18, 447-475 [review].
- Pike, K. M., Walsh, B. T., Vitousek, K., Wilson, G.T. y Bauer, J. (2003). Cognitive behavior therapy in the posthospitalization treatment of anorexia nervosa. *The American Journal of Psychiatry*, 160, 2046-2049.
- Pirke, K. M., Broocks, A., Wilckens, T., Marquard, R. y Schweiger, U. (1993). Starvation-induced hyperactivity in the rat: the role of endocrine and neurotransmitter changes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 17, 287-294.
- Possidente, B., Lumia, A. R., McGinnis, M. Y., Teicher, M. H., de Lemos, E., Sterner, L. y Deros, L. (1990). Olfactory bulb control of circadian activity rhythm in mice. *Brain Research*, 513, 325-328.

- Possidente, B. y Stephan, F. K. (1988). Circadian period in mice: analysis of genetic and maternal contributions to inbred strain differences. *Behavioral Genetics*, 18, 109-117.
- Ramón y Cajal, S. (1982). *Los tónicos de la voluntad*. CSIC. Madrid.
- Reid, L. S. y Finger, F. W. (1955). The rat's adjustment to 23-hour food-deprivation cycles. *Journal of comparative and Physiological Psychology*, 48, 110-113.
- Richardson, H. B. (1939). Simmonds disease and anorexia nervosa. *Archives of Internal Medicine*, 63, 1-28.
- Richter, C. P. (1922). A behavioristic study of the activity of the rat. *Journal of comparative Psychology Monographs*, 1, 1-55.
- Rigaud, D., Verges, B., Colas-Linhart, N., Petiet, A, Moukkaddem, M., Van Wymelbeke, V. y Brondel, L. (2007). Hormonal and psychological factors linked to the increased thermic effect of food in malnourished fasting anorexia nervosa. *Journal of Clinical Endocrinological Metabolism*, 92, 1623-1629.
- Robin, A. L., Siegel, P. T., Moye, A. W., Gilroy, M., Dennis, A. B. y Sikand, A. (1999). A controlled comparison of family versus individual therapy for adolescents with anorexia nervosa. *Journal of the American Academy of Child y Adolescent Psychiatry*, 38, 1482-1489.
- Robinson, P. H. y McHugh, P. R. (1995). A physiology of starvation that sustains eating disorders. En G. Szumukler, C. Dare, y J. Treasure (Eds.), *Handbook of eating disorders* (1ª ed.). Chichester: Wiley.
- Routtenberg, A. (1968). Self-starvation of rats living in activity wheels: Adaptation effects. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 66 (1), 234-238.
- Routtenberg, A. y Kuznesof, A. (1967). A. Self-starvation of rats living in activity wheels on a restricted feeding schedule. *Journal of Comparative Physiological Psychology*, 64 (3), 414-421.
- Russell, G. (1978). Differential diagnosis of anorexia nervosa. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 71, 71-72

- Russell, J., Baur, L., Beumont, P., Byrnes, S. y Zipfel, S. (1998). Refeeding of anorexics: wasteful not wilful. *Lancet*, 352, 1445-1461.
- Russell, G. F., Szmukler, G. L., Dare, C. y Eisler, I. (1987). An evaluation of family therapy in anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Archives of General Psychiatry*, 44, 1047-1056.
- Ryle, J. A. (1936). Anorexia nervosa. *Lancet*, 2, 893-899.
- Ryle, J. A. (1939). Discussion on anorexia nervosa. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 32, 735-746.
- Sargant, W. (1951). Leucotomy in psychosomatic disorders. *Lancet*, 21, 87-91.
- Schebendach, J. E., Klein, D. A., Foltin, R. W., Devlin M. J. y Walsh B. T. (2007). Relative reinforcing value of exercise in inpatients with anorexia nervosa: model development and pilot data. *The International journal of eating disorders*, 40, 446-453.
- Schiele, B. C. y Brozek, J. (1948). "Experimental neurosis" resulting from semistarvation in man. *Psychosomatic Medicine*, 10, 31-50.
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Seeley, R. J. y Baskin, D. J. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404, 661-671.
- Selvini Palazzoli, M. (1963). *L'anoressia mentale. Della terapia individuale alla terapia familiare*. Feltrinelli, Milano.
- Shapiro, K. J. (2004). Animal model research: The apples and oranges quandary. *Alternatives to Laboratory Animals*, 32, (Supl. 1), 405-409.
- Sheldon, J. H. (1939). Discussion on Anorexia Nervosa. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 32, 738-740.
- Sherwin, C. M. (1998). Voluntary wheel running: A review and novel interpretation. *Animal Behaviour*, 56, 11-27.
- Shiele, B. C. y Brozek, J. (1948). "Experimental neurosis" results from semistarvation in mano. *Psychosomatic Medicine*, 10, 31-50.
- Shroff, H., Reba, L., Thornton, L. M., Tozzi, F., Klump, K. L., Berrettini, W. H., Brandt, H., Crawford, S., Crow, S., Fichter, M.M., Goldman, D., Halmi, K.A., Johnson, C., Kaplan, A. S., Keel, P., LaVia, M., Mitchell, J., Rotondo, A., Strober, M., Treasure, J., Woodside, D. B. , Kaye, W. H. y Bulik, C. M. (2006). Features associated with excessive exercise in eating disorders. *International Journal of Eating Disorders*, 39, 454-461.

- Shutter, J. R., Graham, M., Kinsey, A. C., Scully, S., Lüthy, R. y Stark, K. L. (1997). Hypothalamic expression of ART, a novel gene related to agouti, is upregulated in obese and diabetic mutant mice. *Genes and Development*, 11, 593- 602.
- Sibley, D. y Blinder, B. J. (1988). *Anorexia Nervosa in the Eating Disorders*. PMA Publications, New York.
- Siegfried, Z., Berry, E. M. y Hao, S. (2003). Animal models in the investigation of anorexia. *Physiology & Behavior*, 79, 39-45.
- Silverman, J. A. (1997). Sir William Gull (1819-1890) Limner of anorexia nervosa and myxoedema. An Historical essay and encomium. *Eating and Weight Disorders*, 2, 111-116.
- Skärderud, F. (2009). Bruch revisited and revised. *European Eating Disorders Review*, 17, 83-88.
- Slade, P. D. (1973). A short anorectic behaviour scale. *British Journal of Psychiatry*, 122, 83-85.
- Södersten, P., Bergh, C. y Zandian, M. (2006). Psychoneuroendocrinology of anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, 31, 1149-1153.
- Södersten, P., Nergårdh, R., Bergh, C., Zandian, M. y Scheurink, A. (2008). Behavioral neuroendocrinology and treatment of anorexia nervosa. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29, 445-462.
- Sours, J. (1974). The Anorexia nervosa syndrome. *International Journal of Psycho-Analysis*, 55, 567-576.
- Spatz, C. y Jones, S. D. (1971). Starvation anorexia as an explanation of "selfstarvation" of rats living in activity wheels. *Journal of Comparative & Physiological Psychology*, 77, 313-317.
- Spear, N. E y Hill, W. F. (1962). Methodological note: Exercise weight loss in rats living in activity wheels. *Psychological Reports*, 11, 437-438.
- Steinhausen, H. C. (2002). The outcome of anorexia nervosa in the 20th century. *American Journal of Psychiatry*, 159, 1284-1293.
- Stevenson, J. A. y Rixon, R. (1957). Environmental temperature and deprivation of food and water on the spontaneous activity of rats. *Yale Journal of Biological Medicine*, 29, 575 - 584.

- Steward, C. C. (1898). Variations in daily activity produced by alcohol and by changes in barometric pressure and diet, with a description of recording methods. *American Journal of Psysiology*, 1, 40-56.
- Striegel-Moore, R. H. y Bulik, C. M. (2007). Risk factors for eating disorders. *American Psychologist*, 62, 181-198
- Sullivan, P.F. (1995). Mortality in anorexia nervosa. *American Journal Psychiatry*; 152, 1073–1074
- Tabuchi, K., Blundell, J., Etherton, M. R., Hammer, R. E., Liu, X., Powell, C. M. y Sudhof, T. C. (2007). A neuroligin-3 mutation implicated in autism increases inhibitory synaptic transmission in mice. *Science*, 318, 71-76.
- Thoma, H. (1967). *Anorexia nervosa*. Humber-Klitt, Bern: Stuttgart, New york: International University Press.
- Thompson, G. E. y Stevenson, J. A. F. (1963). The effect of food deprivation on temperature regulation in exercise. *Canadian Journal of Biochemistry and physiology*, 41, 528-530.
- Tobías, E. y Stefano, G. (2004). The neurobiology of pleasure, reward processes, addiction and their health implications. *Neuroendocrinology Letters*, 25, 235-251.
- Tokuyama, K., Saito, M. y Okuda, H. (1982). Effects of wheel running on food intake and weight gain of male and female rats. *Physiology and Behavior*, 28, 899-903.
- Toro, J. (1996). *El cuerpo como delito: Anorexia, bulimia, cultura y sociedad*. Barcelona: Ariel.
- Toro, J. (2001). *Guía Clínica para el tratamiento de los trastornos del comportamiento alimentario* (2ª ed.). Ars Médica: Barcelona.
- Toro, J. (2004). *Riesgo y causas de la anorexia nerviosa*. Barcelona: Ariel
- Touyz, S. W., Beumont, P. J. V., Glaun, D., Phillips, T. y Cowie, I. Comparison of lenient and strict operant conditioning programmes in refeeding patients with anorexia nervosa. *British Journal of Psychiatry*, 144, 512-520.
- Touyz, S. W., Beumont, P. J. V. y Hook, S. (1987). Exercise anorexia: A new dimension in anorexia nervosa En P. J. Beumont, G. D. Burrows y R. C. Casper (Eds.), *Handbook of eating disorders, Part 1, Anorexia and*

- Bulimia Nervosa* (pp. 143-157). Amsterdam: Elsevier Science Publishers.
- Treasure, J. L. (2007). Getting beneath the phenotype of anorexia nervosa: the search for viable endophenotypes and genotypes. *Can Journal Psychiatry*, 52, 212-219.
- Treasure J. L. y Owen, J. B. (1997). Intriguing links between animal behaviour and anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 21, 307-311.
- Treichler, F. R. y Hall, J. F. (1962). The relationship between deprivation, weight loss and several measures of activity. *Journal of Comparative & Physiology Psychology*, 55, 346-349.
- Tsuda, A., Tanaka, M., Jimori, K., Ida, Y. y Nagasaki, N. (1981). Effects of divided feeding on activity-stress ulcer and the thymus weight in the rat. *Physiology and Behavior*, 27, 349-353.
- Ungerstedt, U. (1974). Brain dopamine neurons and behaviour. En *The Neurosciences: Third Study Program* (Schmitt FO y Worden FG, eds) pp. 695-703, MIT Press, Cambridge, M.A.
- Valle, A. y Roca, P. (2007). Caloric restriction and gender: which is the stronger sex? *Focus on Obesity*, 3, 5 -7.
- Van der Staay, F. J. (2006). Animal models of behavioral dysfunctions: basic concepts and classifications, and an evaluation strategy. *Brain Research Reviews*, 52, 131-159.
- Van der Staay, F. J., Arndt, S. S. y Nordquist, R. E. (2009). Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders. *Behavioral and Brain Functions*, 5, 11-34.
- Van Deth, R. y Vandereycken, W. (1991). Was Nervous Consumption a Precursor of Anorexia Nervosa? *The Journal of the History of Medicine and Allied Sciences*, 46, 3-19.
- Van Dijk, G. (2001). The role of leptin in the regulation of energy balance and adiposity. *Journal of Neuroendocrinology*, 13, 913-921.

- Vandereycken, W. y van Deth, R. (1989). Who was the first to describe anorexia nervosa: Gull or Lasègue? *Psychological Medicine*, 19, 837-845.
- Vähäsöini, A., Vázquez, R., Birmingham, L. y Gutierrez, E. (2004). Unreported sauna use in anorexia nervosa: evidence from the world-wide-web. *Eating and Weight Disorders*, 9, 50-55.
- Vazquez, R., Carrera, O., Birmingham, L. y Gutierrez, E. (2006). Exploring the association between anorexia nervosa and geographical latitude. *Eating and Weight Disorders*, 11, 1-8.
- Vergoni, A. V. y Bertolini, A. (2000). Role of melanocortins in the central control of feeding. *European Journal of Pharmacology*, 405, 25-32.
- Vink, T., Hinney, A., van Elburg, A. A., van Goozen, S. H., Sandkuijl, L. A., Sinke, R. J., Herpertz-Dahlmann, B. M., Hebebrand, J., Remschmidt, H., van Engeland, H. y Adan, R. A.. (2001). Association between an agouti-related protein gene polymorphism and anorexia nervosa. *Molecular Psychiatry*, 6, 325-328.
- Von Holle, A., Pinheiro, A. P., Thornton, L. M., Klump, K. L., Berrettini, W. H., Brandt, H., Crawford, S., Crow, S., Fichter, M. M., Halmi, K. A., Johnson, C., Kaplan, A.S., Keel, P., LaVia, M., Mitchell, J., Strober, M., Woodside, D. B., Kaye, W. H. y Bulik, C. (2008). Temporal patterns of recovery across eating disorder subtypes. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*, 42,108-117.
- Wakeling, A. y Russell G. F. M. (1970). Disturbances in the regulation of body temperature in anorexia nervosa. *Psychological Medicine*, 1, 30-39.
- Waller, J., Kaufman, R. y Deutsch, F. (1940). Anorexia nervosa, a psychosomatic entity. En R. Kaufman (Ed.), *Evolution of psychosomatic concepts. Anorexia Nervosa: A paradigm* (1965), (pp.245-273). London. The Hogart Press.
- Wallet, H. (1892). Deux cas d'anorexie hystérique. *Nouvelle Iconographie de la Salpêtrière*, 5, 276-280.
- Walsh, B. T., Kaplan, A. S., Attia, E., Olmsted, M., Parides, M., Carter, J. C., Pike, K. M., Devlin, M. J., Woodside, B., Roberto, C. A. Rockert, W. (2006). Fluoxetine after weight restoration in anorexia nervosa: a randomized controlled trial. *JAMA*, 295, 2605-2612.

- Walters, E. E. y Kendler, K. S. (1995). Anorexia nervosa and anorexic-like syndromes in a population-based female twin sample. *American Journal of Psychiatry*, 152, 64-71.
- Warren, M. y Vande Wiele, R. (1973). Clinical and metabolic features of anorexia nervosa. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 117, 435-449.
- Watanabe, K., Hara, C. y Ogawa, N. (1990). Relationship between running activity rhythm and the development of activity-stress ulcer in rats. *Japan Journal of Pharmacology*, 52, 421-429.
- Watanabe, K., Hara, C. y Ogawa, N. (1992). Feeding conditions and estrous cycle of female rats under the A-S stress procedure from aspects of anorexia nervosa. *Physiology and Behavior*, 51, 827-832
- Weber, P. (1939). Discussion on anorexia nervosa. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 36, 746.
- Wehner, J. M., Radcliffe, R. A. y Browsers, B. J. (2001). Quantitative genetics and mouse behaviour. *Annual Review of Neuroscience*, 24, 845-867.
- Weiss, B. (1957a). Pantothenic acid deprivation and thermal behavior of the rat. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 5, 125-128.
- Weiss, B. (1957b). Thermal behavior of the subnourished and pantothenic-acid deprived rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 50, 481-485.
- Weiss, B. y Laties, V. G. (1960). Magnitude of reinforcement as a variable in thermoregulatory behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 53, 603-608.
- Weiss, B. y Laties, V. G. (1961). Behavioral thermoregulation. *Science*, 133, 1338-1344.
- Westerterp, K. R. y Goran, M. I. (1997). Relationship between physical activity related energy expenditure and body composition: a gender difference. *International Journal of Obesity Related Metabolism Disorders*, 21, 184-188.
- What Happens When Exercise Goes Too Far? (2009). Consultado el 15 de abril del 2009, página web de Healthy Place America Mental Health

Channel: <http://www.healthypace.com/eating-disorders/main/over-exercising-what-happens-when-exercise-goes-too-far/menu-id-58/>

- Whytt, R. (1765). Observations on the nature, causes and cure of those disorders which have been commonly called nervous, hypochondriac, or hysteric: To which are prefixed some remarks on the sympathy of the nerves En R. Van Deth y W. Vandereycken, (1991). Was Nervous Consumption a Precursor of Anorexia Nervosa? *The Journal of the History of Medicine and Allied Sciences*, 46, 3-19.
- Williams, G., Bing, C., Cai, X. J., Harrold, J. A., King, P. J. y Liu, X. H. (2001). The hypothalamus and the control of energy homeostasis. Different circuits, different purposes. *Physiology & Behavior*, 74, 683-701.
- Willner, P. (1991). Behavioural models in psychopharmacology. In Willner, P. (Ed.), *Behavioural Models in Psychopharmacology. Theoretical, industrial and Clinical Perspectives*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp. 3-18.
- Wise, R. A. (2004). Dopamine learning and motivation. *Nature Reviews Neuroscience*, 5, 483-494.
- Woods, D. J. y Routtemberg, A. (1971). "Self –starvation" in activity – wheel: Developmental and cholpromazine interactions. *Journal of Comparative and Psysiological Psychology*, 76, 84-93.
- Woodside, D .B. y Twose, R. (2004). Diagnostic issues in eating disorders: historical perspectives and thoughts for the future. (pp. 1-19). En T.D. Brewerton (ed.) *Clinical Handbook of eating disorders: An integrated approach*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- World Health Organization. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problem, Tenth Revision. Geneva:World Health Organization, 1992.
- Yamada, N., Shimoda, K., Takahashi, S. y Takahashi, K. (1986). Change in period of free-running rhythms determined by two different tools in blinded rats *Physiology & Behavior*, 36, 357-362.
- Yelowlees, H. (1939). Discussion on anorexia nervosa. *Proccedings of the Royal Society of Medicine*, 36, 746.

- Yi, I. y Stephan, F. K. (1996). Body fat reserves attenuate gastric ulcers induced by restricted feeding in rats. *Physiology and Behavior*, 59, 931-936.
- Zanker, C. (2009). Anorexia nervosa and the body image myth. *European Eating Disorder Review*, 17, 327-330.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. y Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425-432.
- Zhu, A. J. y Walsh, B. T. (2002). Pharmacologic treatment of eating disorders. *Can Journal Psychiatry*; 47, 227-234.
- Ziegler, R. y Sours, J. (1968). A naturalistic study of patients with anorexia nervosa admitted to a University Medical Center. *Comprehensive Psychiatry*, 9, 644-651.
- Zigman, J. M. y Elmquist, J. K. (2003). Minireview: From anorexia to obesity-the yin and yang of body weight control. *Endocrinology*, 144, 3749-3756.

ANEXOS

Anexo 1. Descripción de los elementos que integran un paquete estructurado de tratamiento multidisciplinar de la anorexia nerviosa. Traducido de Attia y Walsh (2009).

Los programas conductuales estructurados generalmente utilizan un equipo de tratamiento multidisciplinar que trabaja realizando intervenciones, cuyo principal objetivo es normalizar el peso y la conducta alimentaria. A las pacientes se les plantean una serie de expectativas conductuales, como por ejemplo comer el 100% de los alimentos y conseguir aumentar significativamente de peso. La prioridad de este tipo de tratamiento es proporcionar a las pacientes las calorías adecuadas para comenzar a recuperar peso. Se requieren aproximadamente 3500 kcal para incrementar cada libra de peso. En nuestra institución, los programas para los trastornos de alimentación empiezan con una prescripción de 1800 kcal por día en alimentos sólidos. Cuando el paciente está médicamente estable (generalmente, entre 2 y 7 días después del ingreso), la dieta se incrementa 400 kcal por día cada, 48 ó 72 horas, hasta alcanzar las 3800 kcal por día, de las cuales por lo menos 3000 kcal deben ser proporcionadas en forma de alimento sólido, mientras que el resto se ofrece en forma de suplemento líquido. Las pacientes se pesan tres veces por semana, todos los lunes, miércoles y viernes y se espera que ganen por lo menos 0,75 libras (0,3 kg) con respecto al peso registrado previamente.

Un programa conductual eficaz es el que logra la realimentación, mediante la alimentación oral y suplementos nutricionales. Puede ser necesario la alimentación con una sonda nasogástrica para pacientes que son resistentes o que no aceptaron el tratamiento voluntariamente, pero siempre debe considerarse en primer lugar la alimentación oral. Algunos programas utilizan la sonda nasogástrica por la noche en un intento de reducir la demanda de ingesta calórica durante el día. Sin embargo, el objetivo central de programas conductuales eficaces es la recuperación de los hábitos alimentarios, incluyendo en éstos la toma oral de calorías entre horas durante el día. La nutrición parenteral es el último recurso ya que se ha asociado con una alta frecuencia de complicaciones médicas substanciales en esta población.

Un componente importante del enfoque conductual son las contingencias establecidas en caso de que no se alcancen los objetivos nutricionales. Por ejemplo, el nivel de actividad física permitido puede verse reducido o la cantidad de supervisión aumentada si el peso de una paciente no ha aumentado la cantidad recomendada. Si el aumento de peso es inadecuado, pueden añadirse calorías, incluso mediante alimentación nasogástrica. En los programas se enfatiza que tales intervenciones son médicamente necesarias para lograr los objetivos de tratamiento, apuntando que no es un castigo por la "mala conducta". Las oportunidades para la actividad y la flexibilidad dentro de la estructura de tratamiento aumentarán si la paciente alcanza las expectativas establecidas y serán reducidas si no se alcanzan. Los pacientes que participan en programas de este tipo, también reciben una serie de intervenciones terapéuticas de un equipo multidisciplinar, que incluye médicos, psicólogos, enfermeras, nutricionistas, asistentes sociales y terapeutas ocupacionales. Los objetivos específicos del programa de tratamiento incluyen la interrupción del comportamiento alimentario desordenado, la reintroducción de alimentos "temidos" y (especialmente cuando el peso se acerca a un peso adecuado) la práctica de comer con normalidad. Nuestro programa incluye la supervisión de la comida y el control posterior, ir de compras en grupo y la preparación de la comida, salidas a restaurantes para ayudar a los pacientes a poner en práctica la selección adecuada de alimentos, así como el comportamiento durante la comida y después de comer. Esto se complementa con sesiones de terapia individual con residentes de psiquiatría y reuniones con un trabajador social que realiza terapia familiar. (pp. 502-504)

Anexo 2. Eficacia y problemas potenciales asociados a un paquete estructurado de tratamiento multidisciplinar de la anorexia nerviosa. Traducido de Attia y Walsh (2009).

Como en cualquier programa estructurado de tratamiento, la terapia para los pacientes con anorexia nerviosa está asociada con interrupciones en su vida social, en la escuela o en sus actividades laborales, así como con un fuerte sentimiento de impotencia y de pérdida de control. Dado el deterioro que se asocia frecuentemente con la anorexia nerviosa y la potencial naturaleza mortal de la enfermedad, estos riesgos son considerados pequeños en comparación con los beneficios potenciales del tratamiento. Además, en ocasiones se ha expresado la preocupación de que, en un programa conductual compartido, pacientes que no han sido previamente tratadas puedan aprender conductas patológicas de pacientes más crónicos; no obstante no hay datos disponibles para evaluar la frecuencia de este tipo de problemas ...

Aunque la terapia conductual para la recuperación de peso, es útil para tratar a las pacientes con anorexia nerviosa a corto plazo, no está claro el beneficio que tienen estos programas a largo plazo. Desafortunadamente, incluso después de finalizar con éxito estos programas conductuales estructurados, las actitudes sobre el peso y la conducta alimentaria no se normalizan totalmente. Como resultado, las tasas de recaída son elevadas. En cuanto a los programas de tratamiento con hospitalización, casi el 50% de los pacientes con anorexia nerviosa que se someten a este tipo de tratamiento para recuperar peso, tiene una recaída durante el primer año después de la hospitalización. (pp.504-505)

Anexo 3. Esbozo del panorama de la anorexia nerviosa en la primera mitad del siglo XX. Traducido de Dally y Sargent (1960).

Gull pensaba que el pronóstico en general era favorable, pero desde entonces los médicos encontraron que estas pacientes no estaban dispuestas a comer a pesar de los consejos morales y otros tipos de persuasión que se les daba. En estos últimos años, en ocasiones se ha observado un franco pesimismo acerca de los resultados del tratamiento. Un reciente estudio del Hospital Maudsley mostró que el 15% de las pacientes en el grupo de seguimiento habían muerto a causa de la enfermedad o de sus complicaciones.

Se han probado distintas preparaciones hormonales, incluyendo las tiroideas, la insulina y la cortisona, sin embargo, el efecto ha sido escaso. El electro- shock ha sido empleado a menudo, pero los resultados no son nada alentadores, y puede hacer mucho más daño que bien, a menos que haya una marcada depresión endógena. Debido a estos resultados infructuosos de tratamiento en muchos pacientes, uno de nosotros (Sargent, 1951) trató casos crónicos seleccionados con leucotomía modificada y sugirió que esto era preferible a los riesgos mucho más graves de permitir que los estados de inanición continúen indefinidamente. Desde entonces, la moda en el tratamiento ha vuelto casi al punto de partida. En tiempos de Gull la alimentación por sonda en ocasiones se usaba como último recurso, pero la mayoría de los profesionales desde entonces, están de acuerdo en que, desde el punto de vista psicológico, es lo más indeseable. Sin embargo, los artículos publicados en los últimos dos años han vuelto a defender el uso rutinario de la alimentación por sonda como el método más práctico y la mejor alternativa a la leucotomía modificada (Williams, 1958; Wall, 1959).

En una carta sobre la inconveniencia de emplear la alimentación por sonda para tratar esta enfermedad, se mencionó el uso de un nuevo método de tratamiento en el que se modificaba el tratamiento con insulina, combinándolo con altas dosis de clorpromazina (Dally, Sargent, Oppenheim, 1958).
